WELLCOME INSTITUTE LIBRARY
Coll. welTROmec
Call No. pam WC 715 1909 N64k2

LE KALA AZAR INFANTILE

M.Charles NICOLLE

Annales de l'Institut Pasteur, 1909, Mai.

22200058993

[361]

Tome 23me ANNEE MAI 1909 No 5

ROYAL SOCIETY OF MEDICINE

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

Le Kala Azar infantile.

PAR M. CHARLES NICOLLE
Directeur de l'Institut Pasteur de Tunis.
(Avec les pl. XIV et XV)

Les recherches dont nous exposons aujourd'hui les résultats ont été commencées en septembre 1907 à l'Institut Pasteur de Tunis. Nous avons attendu, avant de faire paraître un mémoire d'ensemble sur cette maladie nouvelle, qu'une notable partie des points à élucider aient reçu une solution satisfaisante.

Nous ne croyons plus devoir retarder aujourd'hui cette publication. On y trouvera, réunies à quelques faits nouveaux, les données établies par nous dans nos communications préliminaires à l'*Académie des Sciences*, l'*Académie de Médecine* et la *Société de Pathologie exotique* et que nous avons plus longuement exposées dans les *Archives de l'Institut Pasteur* de Tunis qui constituent comme le journal de nos expériences. Nous renvoyons à ces articles pour tous les détails qu'il nous paraît oiseux de répéter dans un mémoire d'ensemble.

On trouvera à la fin de ce travail la liste de nos publications antérieures.

Nous avons eu la bonne fortune d'être secondé dans nos recherches par le docteur C. Comte, chef de laboratoire à l'Institut Pasteur de Tunis, et par le docteur L. Manceaux, médecin-major au 4e zouaves à Tunis. A ces deux excellents collaborateurs, nous adressons nos remerciements.

Nous devons également de l'obligation à nos confrères du corps médical tunisien qui nous ont procuré les matériaux de travail sans lesquels nos recherches n'auraient pu être entreprises. Nous mentionnons, en premier lieu, notre ami le docteur Cassuto, auquel nous sommes redevables de la connaissance de

notre premier cas et qui a eu le grand mérite clinique d'en diagnostiquer ultérieurement un autre sur un enfant vu par lui après décès.

Nous citerons ensuite dans l'ordre chronologique des observations qu'ils nous ont apportées : MM. les docteurs Naamé, Cortesi, Porot, Domela et Calamida.

Le Kala Azar indou.

Sous le nom de Kala Azar (splénomégalie tropicale, fièvre dum-dum, etc.), les médecins anglais des Indes ont fait connaître, il y a quelques années, une infection spéciale, distincte du paludisme avec lequel elle est souvent confondue, et caractérisée par les symptômes suivants : fièvre irrégulière, anémie progressive, amaigrissement extrême, troubles digestifs, hypertrophie considérable de la rate, hypertrophie moindre du foie, œdèmes transitoires. On peut noter également, mais d'une façon moins constante, des hémorrhagies par diverses voies, une éruption pétéchiale, la coloration bronzée de la peau (d'où le nom de la maladie : Kala Azar, fièvre noire), des douleurs rhumatoïdes. La quinine et les sels sont sans action sur la température. La terminaison presque fatale est la mort (1). L'agent pathogène de cette infection a été découvert par Leishman (2) en 1903, et retrouvé la même année par Donovan (3). Les préparations de cet auteur ont servi à MM. Laveran et Mesnil (4) pour leur étude du parasite, auquel ils avaient primitivement donné le nom de *Piroplasma donovani.*

Il a été depuis reconnu que ce protozaire ne présentait que des analogies avec les piroplasmes et un genre nouveau, le genre *Leishmania* a été créé pour lui. L'agent du Kala Azar indou a donc pris le nom de *Leishmania donovani.* Depuis cette époque, les travaux les plus importants ont été publiés par Christophers, Rogers, qui le premier a obtenu des cultures du microbe en sang

(1) Pour une connaissance plus complète du Kala Azar indou, consulter le traité de P. Manson, *Tropical diseases*, 1904, p. 271; et les articles parus depuis quelques années dans la presse anglaise, en particulier dans le *Brit. med. Journ.* 1903, nos 2213, 2219; 1904, no 2281, et le *Lancet.* La presque totalité des travaux publiés sur le Kala Azar a été résumée de la façon la plus claire et la plus instructive par M. F. Mesnil dans le *Bulletin de l'Institut Pasteur.*

(2) Leishman, *Brit. med. Journ.* 1903, 30 mai, no 2231, p. 1252-54.

(3) Donovan, *Brit. med. Journ.*, 1903, 11 juillet, no 2219, p. 79.

(4) Laveran et Mesnil, *Acad. med.* 1903, 3 novembre, *Acad. sciences* 1903, 7 décembre; 1904, 25 janvier.

citraté. Patton, qui pense avoir suivi l'évolution du parasite chez une punaise, etc. Les corps de Leishman se rencontrent dans la rate, le foie, la moelle osseuse, les ganglions. Ils sont inclus dans de grandes cellules mononucléaires qui en contiennent souvent une quantité prodigieuse; ces cellules appartiennent surtout à l'endothélium des vaisseaux. Les parasites sont arrondis ou ovalaires; leurs dimensions, dans ce dernier cas, varient de 2 μ 5 sur 1 μ 5. Dans un protoplasma dépourvu de pigment, ils présentent deux corps chromatiques : le noyau, rond ou ovale, et le centrosome punctiforme ou en bâtonnet; ce dernier fixant très fortement la couleur.

L'analogie de ces protozoaires avec les parasites découverts par Wright dans le bouton d'Orient est extrême; les cellules qui les contiennent offrent des caractères identiques.

Le diagnostic de la maladie n'a pu être établi dans les premiers cas que par la ponction de la rate; il semble aujourd'hui, en raison des dangers que peut présenter cette opération, que les médecins anglais des Indes lui préfèrent la ponction du foie ou même, quoi qu'elle soit infidèle, la recherche dans le sang périphérique.

Le Kala Azar, assez fréquent dans le Bengale et dans l'Assam, a été observé dans quelques autres contrées : Ceylan, Chine, Philippines, Égypte, Arabie et même récemment en Crète (1).

Dans ces divers pays, la maladie ne semble présenter aucune prédilection pour les enfants en bas âge; les quatre cas égyptiens dont on connaît l'observation concernent trois adultes et un garçon de quatorze ans. Le cas récent, découvert en Crète, est celui d'un soldat.

Historique du Kala Azar infantile en Tunisie.

En 1904, notre ami, M. Cathoire, médecin-major à la Goulette, examinant les frottis de rate recueillis à l'autopsie d'un enfant français de neuf mois, atteint d'une affection mal définie et qu'il n'avait pu suivre, y trouva des corps dont la stucture lui sembla particulière. M. Laveran, auquel il adressa ses préparations, reconnut dans ces corps les parasites que Leishman et Donovan venaient de découvrir dans le Kala Azar (2).

Depuis cette époque, jusqu'en septembre 1907, nous avions

(1) G. J. S, Archer, *Journ. Roy, Army med. corps*, sept.-novembre 1907.

(2) *Académie de Médecine*, 1904, 22 mars, p. 247-248.

recherché systématiquement en vain des cas analogues. Toutes les fois que, sur un malade cachectique européen ou indigène, soumis à notre examen, une hypertrophie notable de la rate ne coïncidait pas avec la présence d'hématozoaires dans le sang, la ponction de l'organe était pratiquée et le produit examiné au microscope. M. Cathoire, de son côté, s'était livré à des recherches analogues. Dans tous les cas (30 ou 40 au total), la recherche du piroplasme fut négative; par contre, l'hématozoaire de Laveran, invisible dans le sang, était presque toujours présent dans la rate.

Nos examens avaient porté presque exclusivement sur des adultes, ce qui donne la raison de nos échecs.

Devant la constance de ces résultats négatifs, nous en étions arrivés, pour expliquer le cas de M. Cathoire, à envisager l'hypothèse du transport du germe par un officier français venu directement de l'Inde à la Goulette au moment où l'enfant commençait à être malade. Les dates cependant ne concordaient pas d'une façon absolument satisfaisante, et bientôt la découverte de cas de Kala Azar en Égypte et en Crète venait rendre au contraire probable l'existence autochtone de cette affection dans l'Afrique Mineure.

Ce n'était cependant là qu'une apparence, car, nous le verrons, l'infection observée par nous en Tunisie diffère de la malade indoue par une donnée capitale, *l'âge de nos malades* qui sont tous des enfants jeunes, le plus souvent même en bas âge.

En nous permettant, au mois de septembre 1907, d'examiner avec lui un enfant français atteint d'anémie grave et fébrile avec hypertrophie de la rate, M. Cassuto nous fournit l'occasion que nous cherchions de commencer l'étude de la maladie. Presque toutes nos recherches expérimentales ont été pratiquées avec le virus de notre premier malade.

Nous avons pu, depuis cette date, observer, dans le délai d'une année environ, huit autres cas de Kala Azar diagnostiqués par la ponction de la rate. Avec l'observation antérieure de Cathoire et un autre cas dans lequel la recherche de l'agent spécifique n'a pu être faite, mais qui n'offre cliniquement aucun doute, cela fait aujourd'hui onze cas certains de Kala Azar infantile observés en Tunisie (1).

1. Au moment où nous corrigeons ces épreuves (avril 1909), un nouveau cas vient de nous être adressé par le docteur Calamida : Cas 12, avec confirmation microscopique.

Le nombre de ces cas, quoique encore limité, n'en est pas moins suffisant pour nous permettre de tracer de cette maladie nouvelle un tableau clinique. Toutes nos observations sont d'ailleurs presque exactement superposables.

Dans l'étude qui va suivre, nous désignerons les divers cas tunisiens en employant la même numération que dans nos publications antérieures. Cette numération suit l'ordre chronologique des cas, à deux exceptions près, sur lesquelles nous désirons nous expliquer :

1° L'observation de Cathoire porte le numéro 3, quoi qu'elle soit la plus ancienne en date, parce que nous lui avons donné ce chiffre dans notre premier travail;

2° La seconde observation de Calamida est désignée sous le numéro 11, alors que par sa date elle devrait venir la sixième. Nous lui avons assigné la dernière place parce que, dans ce cas, le seul de la série, le diagnostic clinique indiscutable de Kala-Azar n'a pu être confirmé par l'examen microscopique.

Voici la liste de nos observations avec leurs numéros d'ordre et le nom des médecins qui nous ont fourni l'occasion de les étudier avec eux.

I. — Cassuto (avec autopsie).
II. — Naamé.
III. — Cathoire (cas antérieur à nos recherches).
IV. — Conseil.
V. — Cassuto (reconstitué *post-mortem* par ponction de la rate du cadavre).
VI. — Cortesi.
VII. — Cortesi.
VIII. — Porot (avec autopsie).
IX. — Domela.
X. — Calamida.
XI. — Calamida (pas de confirmation microscopique).

Esquisse clinique du Kala Azar infantile.

AGE. — SEXE. — NATIONALITÉ. — Il s'agit dans tous les cas, ainsi que nous l'avons dit, et c'est là jusqu'à présent un caractère constant et propre à la maladie, d'enfants jeunes, généralement même d'enfants en bas âge.

Au moment où l'infection a débuté chez nos malades, ils

comptaient respectivement (en suivant l'ordre des observations), 20 mois, 18 mois, 5 mois, 3 ans, 4 ans, 2 ans, 18 mois, 26 mois, 18 mois, 6 ans (1), 8 mois. Ces chiffres ne sont qu'approximatifs, ils doivent tous être considérés comme trop élevés, car nul symptôme bien évident ne prévient les parents ou le médecin du début exact de la maladie. On est donc actuellement en droit de dire que le Kala Azar infantile peut débuter dès les premiers mois de la vie et qu'on ne doit guère s'attendre à le voir paraître après 3 à 4 ans. Il semble que ce soit surtout pendant la seconde année (entre 1 et 2 ans) qu'il fasse, en général, son apparition.

Sept des enfants appartenaient au sexe masculin, les quatre autres étaient des filles.

Au point de vue de la nationalité, nous comptons trois enfants français, quatre italiens, deux nés de mariage entre français et italiennes, un maltais, un indigène. Des diverses races qui peuplent la Tunisie, la race israélite est la seule qui ne nous a donné jusqu'à présent aucun cas.

Tous ces enfants sans exception étaient nés dans la Régence.

LOCALITÉ OU A DEBUTÉ L'INFECTION. — Nous avons cherché à déterminer pour chaque cas dans quelle localité se trouvait l'enfant au début de son infection. A une exception près, ce renseignement a pu être établi d'une façon certaine.

Voici les résultats obtenus :

Tunis : 5 cas (dont un douteux, peut-être contracté à Saint-Cyprien, 25 kilomètres ouest de Tunis.)

La Goulette : 1 cas.

Halouane (2) : 1 cas.

Bir M'cherga (3) : 1 cas.

Oued Zargua (4) : 1 cas.

Ferryville : (5) : 1 cas.

Porto-Farina (6) : 1 cas.

Tous ces cas appartiennent à la région septentrionale de la

(1) Le père de cet enfant a affirmé que le malade présentait déjà une pâleur très accentuée 4 ans avant l'apparition des autres symptômes. Si ce renseignement est exact, l'âge du malade au début de l'infection aurait été de 2 ans et non de 6.

(2) 25 kilomètres au sud de Tunis, direction de Zaghouan.

(3) 30 kilomètres au sud de Tunis, même direction.

(4) 70 kilomètres à l'ouest de Tunis, ligne d'Algérie.

(5) 50 kilomètres au nord de Tunis, ligne de Bizerte.

(6) 40 kilomètres au nord de Tunis.

Toutes ces indications représentent la distance à vol d'oiseau.

Le 12e cas auquel nous avons fait allusion dans une note précédente, concerne un enfant de 2 ans et qui est du sexe masculin, italien, atteint depuis 1 an, habitant et ayant toujours habité à Bir M'cherga. C'est le 2e cas constaté dans cette localité.

Tunisie (Contrôles de Tunis et Bizerte). Nous n'avons pas eu l'occasion d'examiner d'enfants appartenant à d'autres parties de la Régence. Nous devons faire remarquer cependant que, lors d'un séjour que nous avons fait à Djerba au printemps 1907, nous nous souvenons avoir examiné un enfant indigène atteint d'anémie avec fièvre et grosse rate, non paludéen, que nous serions rétrospectivement porté à considérer comme ayant été atteint de Kala Azar.

SYMPTOMATOLOGIE. — La symptomatologie du Kala Azar infantile paraît sensiblement identique à celle du Kala Azar indou. Seul, l'âge des malades diffère.

DÉBUT. — Le début de l'infection est insidieux et ne peut jamais être précisé d'une façon parfaitement exacte. Les premiers symptômes observés sont mis généralement sur le compte d'un accident ou d'une affection banale : évolution dentaire, troubles digestifs, troubles de croissance, etc.

Ces symptômes sont une *anémie progressive* accompagnée de *poussées fébriles irrégulières* et de *troubles gastro-intestinaux*. L'enfant maigrit, devient moins gai, cesse de s'intéresser à ce qui l'entoure, refuse de jouer (s'il s'agit de tout jeunes enfants, les parents ne manquent pas de faire remarquer qu'ils n'ont jamais joué) et semble craindre tout effort. L'appétit est généralement conservé sauf, et non d'une manière constante, au moment des crises digestives. Celles-ci consistent en des périodes de diarrhée souvent fétide, alternant avec des périodes de constipation; le ventre est parfois ballonné, mais ce ballonnement cesse dès que les symptômes digestifs s'amendent.

La *pâleur* est un signe précoce; nous verrons plus loin son importance capitale pour le diagnostic clinique de la maladie.

La fièvre semble irrégulière, procédant par poussées dont la durée n'excède pas quelques jours et que suivent des périodes apyrétiques où tout semble rentrer dans l'ordre. Il est exceptionnel que la température ait été prise d'une façon régulière à cette époque. La plupart des enfants qui font l'objet de nos observations n'ont été vus alors qu'à de rares intervalles; généralement même, ils ont échappé jusqu'à la période d'état à tout examen médical.

ÉTAT. — Lorsqu'il nous a été donné d'observer personnellement les malades, ils présentaient un tableau clinique toujours

très net et sensiblement le même. Tantôt, ils nous étaient adressés par le médecin traitant dès les premiers jours de son examen, son attention, mise en éveil par nos publications antérieures, ayant été attirée par les symptômes capitaux de la maladie : pâleur, amaigrissement, œdèmes, fièvre, hypertrophie de la rate; tantôt, et ce fut le cas pour les premiers malades, parce que la fièvre mise sur le compte du paludisme ne cédait pas à la quinine. *L'absence d'action de la quinine chez un enfant présentant une fièvre irrégulière et une grosse rate est un des symptômes caractéristiques du Kala Azar infantile.*

A l'examen, nous notons, comme premier signe, une *pâleur extrême*. La face de l'enfant est blanche comme un linge, d'une blancheur telle qu'on n'en voit de semblable que chez les gens ayant subi une forte perte de sang.

Ce n'est pas la pâleur terreuse du paludisme, c'est une teinte d'un blanc mat et transparent suffisamment typique pour que, dans un cas, nous ayons pu porter cliniquement le diagnostic de Kala Azar en nous basant sur elle. En dehors de la peau du visage, les téguments de tout le corps sont décolorés et les muqueuses, celles des conjonctives en particulier, absolument exsangues.

Cette pâleur s'accompagne d'un *amaigrissement profond*. La tête du malade est celle d'un athrepsique; ses traits donnent une impression de décrépitude enfantine. Le tronc est décharné, les côtes et les omoplates font saillie, les membres sont maigres, squelettiques.

Formant contraste avec cette maigreur générale, le *ventre* se montre *volumineux*, parfois tendu. A sa surface, les veines superficielles de l'abdomen dessinent un réseau plus ou moins apparent. Souvent l'hypochondre gauche paraît plus gros, plus plein que le droit. Il existe parfois un peu d'ascite.

On remarque fréquemment des *œdèmes* de la face, des mains et des pieds. Ces œdèmes sont *blancs*, *non douloureux*, *fugaces*. Ils ont un début subit, une durée quelquefois éphémère et disparaissent souvent aussi brusquement qu'ils sont venus. Malgré leur tendance à la symétrie, ils sont nettement influencés par l'attitude du malade, et prédominent du côté ou aux extrémités déclives.

A la face, ils siègent surtout aux paupières, lesquelles par

leur bouffissure donnent à l'enfant l'aspect d'un brightique ou d'un coquelucheux. En dehors des mains, les poignets, les avant-bras, les bras sont souvent atteints. Aux membres inférieurs, l'œdème des jambes et des cuisses accompagne souvent l'enflure des pieds. Il est fréquent d'observer un gonflement œdémateux des organes génitaux externes. A partir d'un certain degré d'infection, ces œdèmes peuvent devenir définitifs.

L'attention du médecin est parfois attirée par les parents même de l'enfant du côté de la rate. Dans les pays, comme la Tunisie, où le paludisme est endémique, on connaît jusque dans les milieux indigènes l'importance de l'hypertrophie splénique et on sait la rechercher. Souvent cette hypertrophie est telle qu'on voit se dessiner l'organe sous forme de tumeur volumineuse occupant l'hypochondre gauche et descendant plus ou moins bas dans les régions sous ombilicales.

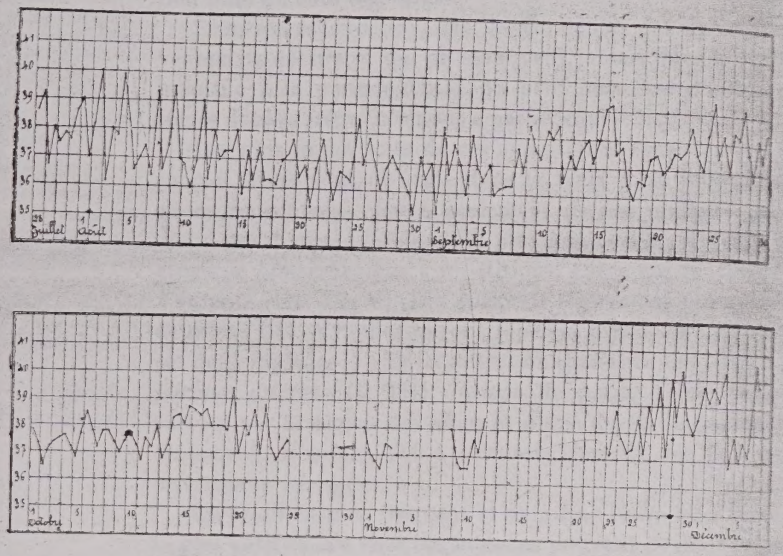
La palpation permet de se rendre un compte exact de cette hypertrophie. *La rate est généralement énorme*, mesurant jusqu'à 15 à 20 centimètres de haut pour une largeur sensiblement moindre. L'organe, occupant en partie la cavité abdominale et dépassant dans tous les cas le rebord costal, peut être facilement pris entre les mains. Parfois même, il est mobile et abaissé et on peut, par la palpation, en faire entièrement le tour. On reconnaît sans peine sa forme, ses encoches si fréquentes, le caractère mousse de ses bords, sa surface lisse, sa consistance ferme. Jamais la pression n'en paraît douloureuse.

Le foie s'hypertrophie plus tardivement et à un degré moindre que la rate. Il est de règle, à partir d'une certaine époque, qu'il dépasse d'un à deux ou trois travers de doigt le rebord costal.

Les ganglions des aines, des aisselles, du cou sont souvent gros; mais leur hypertrophie est un phénomène banal qui n'a rien à voir avec le Kala Azar.

L'examen des autres organes ne décèle ordinairement aucun symptôme important. A l'auscultation des poumons, on perçoit souvent des râles de bronchite généralisée ou limitée aux bronches de gros et de moyen volume. On observe quelquefois une toux sèche, quinteuse, plus ou moins persistante. Souvent il semble qu'il existe une dyspnée à l'effort. Le cœur est normal, seuls les battements en sont précipités, leur nombre étant en rapport à la fois avec le degré d'anémie et la fièvre.

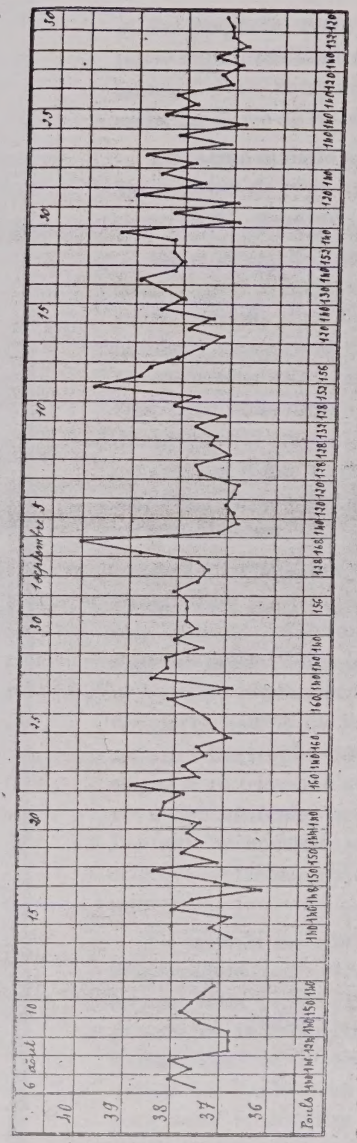
Celle-ci offre une allure absolument irrégulière. Elle procède d'abord par poussées durant une, deux semaines ou davantage et alternant avec des périodes d'apyrexie pour finalement s'établir d'une façon continue sans cesser d'ailleurs de conserver son irrégularité. Au début la température dépasse rarement 38°,5 ou 39°; plus tard elle peut atteindre 40° ou même un peu plus. Les deux courbes ci-jointes donnent idée de la marche de la température chez les malades.



Courbe de l'enfant I.

Pendant les périodes fébriles on voit souvent, dans une même journée, se succéder plusieurs accès, coupés par des périodes d'apyrexie relative ou totale. Il y a donc, dans ces cas, *plusieurs maxima par jour*. A titre documentaire, nous citerons ici le tableau de la température du malade de l'observation X, prise à plusieurs reprises pendant une période de 24 heures :

1 heure du soir	38°,1	11 heures du soir	40°,1
3 heures du soir	37°,1	3 heures du matin	37°,1
5 — —	40	5 — —	37°,1
7 — —	38°,1	9 — —	38°,1
9 — —	37°,1	11 — —	40°



Courbe de l'enfant VI.

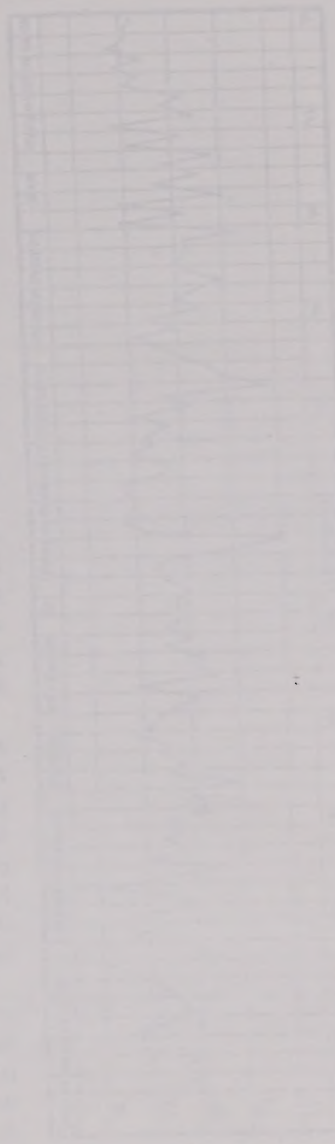
Ces accès fébriles peuvent être précédés de frissons; souvent on note des sueurs dans les périodes apyrétiques intercalaires. Il existe fréquemment une réaction sudorale à l'effort.

Dans les derniers jours de la maladie, s'il ne survient aucune complication qui influence la température, l'enfant, du fait de l'affaiblissement progressif, peut succomber dans l'hypothermie. Celle-ci se rencontre parfois passagèrement dans l'intervalle des périodes fébriles ou à la suite d'hémorrhagies.

Le pouls est toujours rapide, même dans les périodes apyrétiques, où la discordance de la température et du pouls est de règle; il s'exagère au moment des poussées fébriles et peut atteindre jusqu'à 150 et 160.

Pâleur, anémie, amaigrissement, œdèmes fugaces, hypertrophie extrême de la rate, hypertrophie moindre du foie, fièvre irrégulière, fréquence du pouls, sont les symptômes que l'on rencontre constamment dans les cas de Kala Azar à la période d'état.

Les *troubles digestifs* ne manquent pas non plus. Comme au début, ils procèdent par crises irrégulières, se caractérisant par des débâcles et des périodes de diarrhée souvent fétide, alternant avec des journées de constipation.



L'appétit, même pendant ces périodes, *est généralement peu touché*; il est souvent au contraire remarquablement conservé et parfois même augmenté.

L'enfant, dans l'intervalle des accès fébriles, demeure inerte, il refuse de marcher, de se tenir debout, il suit des yeux les personnes de son entourage, ne rit jamais et ne témoigne de son existence que par ses cris lorsqu'il pense qu'on va l'examiner. Il réclame souvent avec énergie ses repas. Nous n'avons jamais rien noté du côté des urines.

Symptômes inconstants. — En dehors des signes que nous venons de décrire et qui ne manquent jamais dans le Kala Azar infantile à la période d'état, on peut constater d'autres symptômes dont la fréquence nous a paru variable.

Les plus importants de ces symptômes consistent en *hémorrhagies*. Elles sont de règle dans le Kala Azar indou. Nous les avons rencontrées chez 5 seulement de nos malades. Elles ont des sièges divers. L'accident le plus fréquent de ce genre est une *gingivite hémorrhagique* à répétitions, elle a été rencontrée chez 3 enfants (III, IV, V). Des *épistaxis* légères ont été notées dans deux cas (III, V); elles se sont répétées à plusieurs reprises chez ces deux malades (1). Deux autres ont présenté une *éruption purpurique* discrète (I, III), formée de petits éléments siégeant surtout sur la région des aines et d'une durée de quelques jours seulement. L'enfant III a eu probablement des hémorrhagies intestinales (*mœlena*).

Un accident plus fréquent et de même ordre est l'*hémophilie*; la plus petite plaie chez ces malades pouvant devenir le point de départ d'hémorrhagies souvent importantes (obs. IV, V, VI). Cette complication gêne parfois le traitement, car les inoculations médicamenteuses sous-cutanées et surtout intra-veineuses peuvent se compliquer de la production d'hématômes (en particulier, obs. VI). Chez l'enfant IV, une petite ulcération spontanée du bord libre de la paupière inférieure de l'œil droit, consécutive à un orgeolet, a donné lieu à une grave hémorrhagie qui a contribué par son abondance à hâter la mort du malade.

En dehors des œdèmes indolores et fugaces de la face et des membres, nous avons remarqué, chez notre premier malade, une poussée inflammatoire du côté des articulations des genoux

1. Nous les avons notées également dans le cas 12, inédit.

et des poignets; cette poussée, analogue à une crise de rhumatisme aigu, consistait en un gonflement périarticulaire, très douloureux avec rougeur, chaleur locale et impotence fonctionnelle. La durée de ces accidents a été de cinq jours.

Le même malade a encore présenté, vers la fin de sa maladie, des œdèmes de type un peu spécial, en bracelets, siégeant sur un segment de membre (avant-bras, jambes) et douloureux.

Dans deux cas, nous avons observé des *éruptions bulbeuses* : Obs. I. gros éléments localisés au visage et aux membres inférieurs, remplis d'un liquide clair et se montrant sous forme de poussées successives accompagnées chacune d'un accès fébrile. Un peu plus tard, apparition d'une bulle unique au genou. Obs. VI, bulle unique du diamètre de 5 millimètres remplie d'une sérosité rosée et siégeant également au genou. Cet élément est entouré d'une zône rouge vif de deux centimètres environ de diamètre; le toucher en est très douloureux; guérison en trois ou quatre jours.

Enfin, il est des accidents particulièrement graves, dont l'apparition peut amener brusquement la mort au milieu d'un état général relativement satisfaisant. Ce sont des *accès de dyspnée subite*. Nous les avons notés chez deux malades (obs. I et V). Chez le premier, ils se sont montrés à deux reprises dans les dernières heures de la vie, sans que rien ait pu faire prévoir qu'une catastrophe était imminente; le premier accès s'est accompagné d'un frisson, d'angoisse violente et d'anurie, il a cédé à une révulsion générale; le second, qui a enlevé en quelques minutes l'enfant, a consisté en une crise subite de suffocation avec angoisse extrême, agitation et sueurs froides, sans perte de connaissance.

La seconde malade (obs. V) était très anémiée par suite d'une hémorrhagie consécutive à une plaie insignifiante du cuir chvelu, lorsque s'est montré chez elle un œdème intense de la moitié gauche de la face. Quelques heures après l'apparition de cet œdème, l'enfant fut prise de toux, puis d'un accès subit de suffocation qui l'enleva en pleine connaissance. Ces accidents nous paraissent reconnaître comme cause un œdème de la glotte, analogue à ces autres œdèmes du visage ou des membres, brusques dans leur apparition, qui sont si caractéristiques du Kala

Azar et que nous avons décrits plus haut. Leur siège ici fait leur gravité (1).

Durée. — Terminaison. — La durée du Kala Azar infantile paraît toujours très longue. La maladie se prolonge pendant des mois, peut-être des années. Nous croyons qu'elle peut présenter des *rémissions*.

Le malade de l'obs. X en serait un exemple, si la pâleur prématurée observée par le père quatre ans avant l'apparition des autres symptômes n'a pas été une illusion. Dans ce cas, les accès très nets de coqueluche qui ont accompagné le début apparent de l'infection ont peut-être simplement réveillé une infection en train de s'éteindre.

Nous pensons en effet que le Kala Azar infantile est susceptible de *guérison spontanée* : sur onze malades observés par nous, neuf sont morts et les deux autres présentent à l'heure actuelle encore un état grave; l'un d'eux, au moins, nous paraît destiné à mourir (2). Nous ne croyons pas cependant que la maladie soit fatalement mortelle. Deux raisons nous font penser qu'elle peut guérir dans certains cas.

La première est le caractère infantile de l'infection. Il est évident que l'homme adulte, l'adolescent, l'enfant d'un certain âge, sont aussi exposés à la contagion, laquelle nous le verrons plus loin se fait par le chien, que l'enfant en bas âge. Si aucun cas n'a été observé jusqu'à présent sur des enfants atteints de plus de six ans, c'est qu'à partir d'un certain âge, l'organisme humain lutte victorieusement contre le parasite. Cette lutte ne se traduit sans doute chez l'adulte par aucun symptôme, mais il est inadmissible qu'entre l'enfant en bas âge qui présente une maladie aussi grave que celle que nous venons de décrire et l'adolescent qui, exposé comme lui, ne réagit nullement, il n'existe pas de cas intermédiaires où la maladie se traduise par un tableau clinique analogue, d'autant plus net que l'individu atteint est moins âgé et que, dans ces cas intermédiaires, le Kala Azar ne puisse guérir après avoir été reconnu cliniquement. Si cette donnée est exacte, le Kala Azar serait, d'une façon générale, d'autant plus grave que l'enfant est plus jeune. Plusieurs de nos

1. L'enfant 10 qui a succombé depuis la rédaction est mort lui aussi à la suite d'accès de suffocation.

2. Au moment où nous corrigeons les épreuves de cet article, l'enfant 10 est mort (30 janvier) et l'enfant 9 a été perdu de vue.

observations, même parmi celles qui se sont terminées par la mort, semblent l'indiquer.

La seconde raison que nous avons de croire à la possibilité de la guérison spontanée dans le Kala Azar infantile, est l'observation que nous avons fait de trois enfants chez lesquels le tableau clinique du Kala Azar a pu être ou partiellement retrouvé ou entièrement reconstitué, tandis que la ponction de la rate pratiquée dans de bonnes conditions a donné un résultat négatif. Deux de ces enfants ont été vus personnellement par nous peu de temps après la cessation de leur fièvre; ils présentaient encore une pâleur caractéristique, de l'amaigrissement, le ventre gros, une rate très hypertrophiée et un foie dont le volume était augmenté. La fièvre, les œdèmes manquaient, mais avaient existé et revêtu les caractères qu'ils ont habituellement dans le Kala Azar infantile. La quinine s'était montrée sans action sur la température pendant la période fébrile.

L'observation d'un de ces malades a été communiquée à la *Société des Sciences médicales de Tunis* par M. le docteur Porot. Cet enfant que nous avons eu l'occasion d'examiner à plusieurs reprises, dont une toute récente (décembre 1908), est aujourd'hui complètement guéri et son anémie disparue; la rate seule reste encore un peu grosse.

Le second malade a été examiné par nous plusieurs mois après la fin de la fièvre; son état général semblait assez bon, il présentait encore avec un certain degré d'anémie, une rate assez grosse, sans être énorme, et un foie qui dépassait légèrement les fausses côtes. Des œdèmes fugaces avaient été notés pendant les périodes fébriles et les médecins avaient remarqué alors l'absence d'action de la quinine sur la température. Deux ponctions de la rate ont été pratiquées sans résultat sur cet enfant, la première par notre collègue militaire, le docteur Sicre, la seconde, six mois plus tard, par nous.

Enfin, un troisième enfant, celui-ci âgé de neuf ans, a été récemment examiné par nous. Il présente une rate grosse et un léger degré d'anémie. En interrogeant ses parents qui appartiennent à l'élite des colons français des environs de Tunis, on établit nettement qu'il a souffert dès les premiers mois de sa vie d'une infection grave, caractérisée par de la fièvre, de l'anémie avec pâleur extrême, des œdèmes et une grosse rate; jamais

la quinine n'a eu d'action sur la température. Ce n'est que peu à peu que l'état général s'est amélioré; actuellement il est encore médiocre, l'enfant a besoin de ménagements, mais il paraît tout à fait hors d'affaire. Nous n'avons pas cru devoir, dans ces conditions, pratiquer une ponction de la rate qui aurait donné à coup sûr un résultat négatif.

Dans les huit cas mortels de Kala Azar infantile observés jusqu'à présent, la *mort* est survenue du fait des accidents suivants :

Obs. I. — Accès brusque de suffocation (œdème de la glotte.)
Obs. II. — Anémie progressive; suppurations multiples.
Obs. III. — Anémie progressive.
Obs. IV. — Anémie progressive, hémorrhagies, suppurations.
Obs. V. — Accès brusque de suffocation (œdème de la glotte.)
Obs. VI. — Anémie progressive.
Obs. VII. — Diphtérie laryngée compliquée de broncho-pneumonie.
Obs. VIII. — Anémie progressive.

L'enfant de l'obs. VII a été perdu de vue, les enfants IX et X sont encore vivants (1).

ESSAIS DE TRAITEMENT. — La plupart des enfants observés n'ont pu être l'objet d'un traitement rationnel; plusieurs ont été vus trop tardivement (chez un le diagnostic a été fait le jour de la mort, chez l'autre le lendemain); pour les autres, presque toujours, les parents n'ont pas permis un essai de traitement rationnel.

Exception doit être faite pour trois malades, ceux des observations I, IX et X. Les derniers étant encore vivants quoique non guéris, nous ne parlerons que du premier (2). L'atoxyl chez lui a paru donner quelques résultats et l'état général paraissait bon, lorsqu'un accès de suffocation subit est venu subitement l'enlever.

Il y a lieu d'essayer dans le Kala Azar infantile les diverses méthodes thérapeutiques employées pour le traitement des trypanosomiases : atoxyl seul en séries bien réglées, association atoxyl-orpiment, l'émétique, la chromothérapie, etc. Quelle que soit la méthode employée, on devra ne pas négliger de soutenir les forces du malade par une bonne alimentation et la vie dans

(1) Nous avons dit dans une note précédente que l'enfant X était mort depuis la date de rédaction de cet article, à la suite d'accès de suffocation.
(2) Au moment où nous terminons cet article, nous apprenons que l'enfant IX (Dr Domela) est très manifestement amélioré (traitement par l'atoxyl).

des conditions parfaites d'hygiène. La terminaison par guérison spontanée, que nous croyons possible, doit encourager tous les essais de traitement.

HÉMATOLOGIE. — LÉSIONS SANGUINES. — Nous avons déjà signalé la tendance aux hémorrhagies. Le sang des malades de Kala Azar infantile est généralement pâle, quelquefois presque aqueux; il se coagule lentement et mal.

N'ayant eu l'occasion de voir la plupart des enfants qu'une seule fois, il ne nous a été possible de pratiquer chez eux qu'un nombre très limité de recherches. Les parents, en général non français, se sont opposés presque toujours aux prélèvements que nous voulions faire. Chez le plus grand nombre de nos malades, nous avons dû nous contenter de la ponction de la rate, trop heureux qu'elle ne nous ait pas été refusée. Ces difficultés expliquent pourquoi ce chapitre de nos recherches, à l'inverse des autres, demeure fort incomplet. Il y aura là une étude à reprendre dans la suite, lorsque les occasions favorables se présenteront. Cette partie de l'étude du Kala Azar est heureusement d'importance secondaire.

Dosage de l'hémoglobine, pratiqué seulement chez deux des malades.

Obs. VI. — Moins de 4 (Hématoscope de Hénocque).
Obs. VII. — 10.

Numération des globules rouges et blancs, chez les mêmes malades;

Obs. VI. — Globules rouges : 1,767,000; globules blancs : 2,325.
Obs. VII. — 3,286,000 et 1,550.

Formule leucocytaire, recherchée chez sept malades;

Obs. I. — Trois examens :

1er examen : mononucléaires 68 (grands mono et formes de transition 40); lymphocytes, 28; polynucléaires, 32. Absence d'éosinophiles.

2e examen : mononucléaires 74 (41 et 33); polynucléaires 26. Absence d'éosinophiles.

3e examen : mononucléaires, 68 (36 et 32); polynucléaires, 32. Absence d'éosinophiles.

Obs. II. — Un examen : mononucléaires, 75 (44 et 31); polynucléaires, 25. Absence d'éosinophiles.

Obs. IV. — Un examen : mononucléaires, 55 (dont 3 seulement de grandes formes); polynucléaires, 45. Absence d'éosinophiles. Le nombre, relativement

plus élevé dans ce cas, des polynucléaires tient vraisemblablement aux suppurations multiples que présentait l'enfant au moment de l'examen.

Obs. VI. — Un examen : mononucléaires, 56 (prédominance des formes de transition); polynucléaires, 43. Éosinophiles, 1.

Obs. VII. — Un examen : mononucléaires, 69 (grands, 5; formes de transition, 39,5); lymphocytes 24,5; polynucléaires, 2. Absence d'éosinophiles.

Obs. IX. — Le sang ayant été mal étalé, aucune numération exacte n'a pu être pratiquée, il y avait cependant manifestement prédominance de mononucléaires.

Obs. XI. — Mononucléaires, 74 (grands, 11, lymphocytes et formes de transition, 63); polyn., 33; éosinophiles, 4.

ÉLÉMENTS ANORMAUX

Obs. I. — Pas d'hématies nucléées lors des trois examens.

Obs. II, IV et IX. — *Id.*

Obs. VI et VII. — Une hématie nucléée pour 200 globules blancs environ.

Obs. XI. — Nombreuses hématies nucléées.

En résumé : anémie globulaire variable suivant le degré de l'infection et, dans tous les cas, *mononucléose* avec prédominance des lymphocytes et des formes de transition; pas d'éosinophilie [1].

Diagnostic du Kala Azar infantile. — Étude morphologique du parasite dans les produits recueillis sur le vivant.

DIAGNOSTIC CLINIQUE

Le diagnostic clinique du Kala Azar infantile à la période d'état nous paraît aisé. Au début, par contre, les difficultés sont certainement très grandes. On devra suspecter en Tunisie toute anémie fébrile s'accompagnant de troubles digestifs, de pâleur précoce et d'hypertrophie de la rate chez un jeune enfant. L'action de la quinine devra toujours être recherchée; si ce médicament, administré sous forme d'injections intramusculaires, se montre impuissant à enrayer la fièvre, le diagnostic de paludisme se trouvant de ce fait écarté, celui du Kala Azar s'impose. Il est possible qu'il existe en Tunisie des anémies infantiles fébriles différentes du Kala Azar ou du paludisme; jusqu'à présent nous n'en avons pas rencontré. Nous sommes donc autorisés à considérer, jusqu'à preuve du contraire, comme probablement atteints

1. Dans le cas 12, inédit, les recherches du côté du sang ont donné les résultats suivants : Hémoglobine, 6; globules rouges, 992,000; globules blancs, 1,032; formule leucocytaire : grands mononucléaires, 2; lymphocytes et formes de transition, 71; polynucléaires, 27; absence d'éosinophiles et d'hématies nucléées.

de Kala Azar et par conséquent justiciables des procédés expérimentaux de diagnostic, tous les enfants anémiques atteints de grosse rate et de fièvre dont la température n'est pas influencée favorablement par l'emploi méthodique des sels de quinine.

A la période d'état, le diagnostic s'impose. Le tableau est dans tous les cas caractéristique : pâleur, amaigrissement, fièvre irrégulière, fréquence du pouls, troubles digestifs coexistant avec un appétit souvent conservé, hypertrophie énorme de la rate, moindre du foie, œdèmes fugaces et non douloureux, mononucléose sanguine, et, souvent, hémophilie et hémorrhagies par diverses voies.

Néanmoins, actuellement, le diagnostic de Kala Azar infantile ne peut être affirmé que si la recherche des parasites spécifiques a donné un résultat positif.

DIAGNOSTIC MICROSCOPIQUE. — RECHERCHE DU PARASITE SPÉCIFIQUE. — MORPHOLOGIE DE *LEISHMANIA INFANTUM* (C. NICOLLE) AGENT DU KALA AZAR INFANTILE DANS L'ORGANISME DE L'ENFANT

Nous avons recherché la présence du parasite du Kala Azar pendant la vie chez tous nos malades (1) par ponction de la rate et chez quelques-uns seulement par ponction du foie, ou simplement piqûre du doigt (examen du sang périphérique). Dans un seul cas (obs. XI) la ponction de la rate a donné un résultat négatif; cette ponction, par suite d'un accident, n'avait pas intéressé l'organe. Malgré ce résultat négatif, nous avons compris ce cas dans le nombre de nos observations de Kala Azar en raison de l'identité complète des symptômes observés chez l'enfant avec ceux des autres malades.

I. — RECHERCHE DU PARASITE DANS LE PRODUIT DE PONCTION DE LA RATE. — DESCRIPTION MORPHOLOGIQUE DE *Leishmania infantum*.

La ponction de la rate chez les enfants atteints de Kala Azar

(1) Chez l'enfant V, vu seulement après la mort, le docteur Cassuto a ponctionné sur le cadavre la rate et le foie; dans le liquide extrait de ces deux organes les parasites étaient nombreux; chez l'enfant VIII chez lequel le diagnostic n'a été porté également qu'après la mort, l'autopsie a montré d'abondants parasites dans les deux organes, une ponction pratiquée dans leur parenchyme au moment de l'entrée de l'enfant à l'hôpital aurait donné un résultat positif.

infantile est rendue des plus aisées par le volume même de l'organe. La pratique nous en a paru tout à fait inoffensive. La consistance de la rate est sans doute un peu diminuée dans le Kala Azar, mais elle reste voisine de la normale et jamais nous n'avons noté de ramollissement de l'organe rappelant ceux qu'on constate dans le paludisme ou la fièvre typhoïde.

Pour pratiquer la ponction, nous faisons immobiliser complètement l'enfant dans le decubitus dorsal et, après avoir désinfecté la peau de l'hypocondre par l'application d'une goutte de teinture d'iode, nous enfonçons dans l'organe l'aiguille d'une seringue stérile. *Il est nécessaire que la seringue et l'aiguille soient parfaitement sèches*, sinon, le sang aspiré se trouvant en contact avec la petite quantité d'eau qu'elles contiennent, s'hémolyse et les préparations qu'on en fait sont mauvaises. D'où la nécessité de sécher seringue et aiguille après la stérilisation en les passant rapidement dans la flamme ou en les mettant quelque temps à l'étuve. Il n'est besoin d'employer qu'une aiguille de petit calibre et courte; la rate de l'enfant est située exactement sous la peau et celle-ci, très amaigrie, ne présente jamais plus de quelques millimètres d'épaisseur. Nous recommandons les *aiguilles en acier* qui piquent bien; nous proscrivons celles en platine iridié qui déchirent et nous n'employons jamais que des aiguilles *neuves*.

Il est inutile de voir le sang entrer par aspiration dans le corps de pompe. Si le sang vient avec abondance, le peu de tissu splénique aspiré se trouve délayé dans le sang, or comme celui-ci ne contient qu'exceptionnellement des parasites, la recherche de ceux-ci qui sont nombreux dans la pulpe de la rate devient difficile et longue. Il faut donc, si l'on voit le sang entrer dans le corps de pompe, cesser de suite d'aspirer et faire les préparations avec la goutte de sang contenue dans l'aiguille. Si rien ne vient, après deux ou trois aspirations, retirer l'aiguille, celle-ci contient toujours au moins une goutelette de liquide splénique très riche en cellules de la rate et convenant par conséquent très bien au diagnostic.

L'emploi d'une seringue stérilisée à l'autoclave s'impose si l'on veut faire des cultures ; dans ce cas, la première goutte donnée par l'aiguille sera projetée dans un tube contenant le milieu convenable, et l'on fera usage du reste du contenu de l'aiguille pour

les frottis sur lames. Pour la fixation et la coloration de celles-ci, on suivra la technique classique : alcool absolu, 10 minutes; Giemsa (3 gouttes pour 2 c. c. d'eau distillée) 20 minutes; laver, sécher.

L'examen au microscope donne des résultats toujours identiques et toujours caractéristiques; seul le nombre des parasites diffère.

L'agent spécifique du Kala Azar infantile appartient au genre *Leishmania*, lequel comprend actuellement en dehors de lui deux espèces *Leishmania donovani* (Laveran et Mesnil), agent du Kala Azar indou, et *Leishmania tropica* (Wright), agent du bouton d'Orient. Nous lui avons donné le nom de *Leishmania infantum* (C. Nicolle).

Morphologiquement, dans les tissus, il est identique aux corps de Leishman du Kala Azar des Indes. Comme eux, il se présente sous la forme d'éléments arrondis ou plus souvent ovalaires pouvant présenter dans ce dernier cas de 3 à 4 μ de longueur sur 2 à 2 μ 8 de large. Examinés sans coloration dans le sang splénique, les parasites se montrent dénués de toute mobilité. La méthode de Giemsa permet de reconnaître leur structure. On distingue nettement sur les individus isolés une *membrane d'enveloppe* mince et transparente; un *protoplasma*, homogène et clair, à peine teinté très légèrement en bleu et, dans ce protoplasma, deux corps chromatiques, le *noyau* et le *centrosome*. (Voir pl. XIV, fig. 1 B.)

Le noyau, ovale ou arrondi occupe généralement une situation médiane par rapport au grand axe et voisine de l'un des grands bords de l'élément. Il mesure, dans sa forme ovalaire, de 1 μ 5 à 2 μ 5 sur 1 à 1 μ 5 de large.

Le centrosome, disposé ordinairement en face de lui, offre toujours une coloration d'une intensité plus grande; la méthode de Giemsa le teinte en rouge grenat alors que le noyau reste violet; il affecte la forme d'un point ou plus souvent d'un petit bâtonnet perpendiculaire ou oblique par rapport au grand axe du protozoaire. L'épaisseur de cet élément ne dépasse pas 0 μ 5, sa longueur pouvant atteindre le triple.

Jamais les *Leishmania* ne présentent de flagelles, même rudimentaires, dans l'organisme.

Au point de vue topographique, on peut les rencontrer sous

trois états : *libres*, *intracellulaires*, ou groupés en nombre variable dans des sortes de *gangues*.

1. — *Isolés*, ils se présentent sous l'aspect que nous venons de décrire. Tantôt, ils sont absolument libres, leur circonférence tranchant d'une façon très nette sur le fond non coloré de la préparation; tantôt, on distingue autour d'eux une substance à contour mal défini, colorée en bleu violacé très pâle. Cette substance, dont les dimensions peuvent être réduites à celle d'une auréole à peine appréciable, est identique à la gangue qu'on observe autour des parasites agglomérés. Ainsi que nous le verrons plus loin, elle est d'origine leucocytaire.

2. — *Intracellulaires*. L'élément le plus souvent parasité est une grande cellule *mononucléaire*, dont le noyau peut se fragmenter à mesure que les dimensions du protoplasma s'accroissent. (Voir pl. XIV, fig. 1 A.)

Nous avons compté dans certains de ces macrophages, véritables cellules géantes, *jusqu'à* 50 *ou même* 80 *parasites*. Jamais le noyau ne paraît envahi. On trouve parfois dans une même cellule des corps de Leishman et des débris de globules rouges. Ces derniers sont toujours en voie de digestion phagocytaire; il est rare, par contre, d'observer des formes de dégénérescence du parasite.

Des cellules de moindres dimensions peuvent servir d'hôtes aux corps de Leishman : *cellules de la rate*, *leucocytes mononucléaires de volume ordinaire*, *formes de transition* entre ces cellules et les lymphocytes. *Nous n'avons jamais trouvé chez l'enfant, de lymphocytes ou de polynucléaires neutrophiles parasités*. Nous verrons plus loin que chez le chien, les polynucléaires peuvent exceptionnellement contenir des *Leishmania* (chien XX).

Lorsqu'on pratique les frottis, le léger traumatisme que subissent ces éléments, véritables sacs gonflés de parasites, suffit pour les déchirer d'où, dans certains cas, le nombre considérable de corps de Leishman libres qu'on rencontre et le nombre relativement restreint de ceux que l'on trouve encore en place dans les cellules hôtes.

On doit admettre cependant que, pendant la vie, un certain nombre de corps de Leishman sont réellement libres. Le fait est indiscutable dans bien des cas, surtout sur les frottis provenant des animaux (chiens, singes). Les formes que nous avons décrites

plus haut, dans lesquelles le contour de l'élément apparaît avec une netteté parfaite sans trace d'auréole périphérique sont en général dans ce cas.

3. — *Parasites contenus dans des gangues. Nature de ces gangues*. Un certain nombre de parasites sont contenus dans des cellules, mais dans une substance mal définie à laquelle MM. Laveran et Mesnil, dans leur étude du Kala Azar indou, ont donné le nom de *gangue* et que Christophers a regardé comme bourgeon détaché des cellules parasitées. (Voir pl. XIV, fig. 1 C.)

Nous avons essayé de nous rendre compte par des examens répétés de la nature de ces gangues. Très fréquentes sur certaines de nos préparations, rares sur d'autres, elles présentent des dimensions et des caractères variables. Tantôt, extrêmement réduites, elles ne forment qu'une sorte d'auréole à contour plus ou moins régulier autour d'un ou de quelques protozoaires; tantôt, elles atteignent le volume d'un globule rouge, souvent même un volume double ou triple. Le nombre des parasites qu'elles contiennent est généralement en raison de leurs dimensions. Lorsque celles-ci sont voisines de celles d'une hématie et que le contour de la gangue est presque régulier, l'analogie avec un globule rouge est assez grande, et nous ne sommes pas étonnés que certains auteurs, MM. Mesnil et Laveran en particulier, trouvant dans le Kala Azar indou des formes identiques, aient pensé d'abord qu'il s'agissait d'hématies parasitées. Nous avons pu nous rendre compte que, sur nos préparations, cette opinion ne pouvait être soutenue. Il existe, en effet, tous les intermédiaires entre la gangue réduite aux dimensions d'une auréole autour d'un parasite et les débris volumineux de protoplasma nettement leucocytaire à contour irrégulier, porteurs de nombreux corps de Leishman. Les réactions colorantes de la substance qui constituent la gangue sont, dans tous les cas, exactement les mêmes. Nous avons pu surprendre, sur certains mononucléaires à demi écrasés au moment où le frottis avait été pratiqué, le mode de production de ces curieux éléments. Une des figures qui accompagnent ce mémoire montre d'une façon très nette comment le protoplasme leucocytaire dissocié par le traumatisme du frottis se fragmente et donne naissance à plusieurs débris qui s'isolent autour des parasites qu'ils contiennent. Qu'un de ces débris prenne en roulant une forme arrondie, si ses dimensions sont celles

d'un globule rouge, l'analogie avec cet élément sera très grande. Nous comprenons donc l'opinion soutenue par certains savants, quoique nous ne puissions nous y rattacher.

Jamais, et notre expérience porte actuellement sur l'examen de plusieurs centaines de frottis provenant non seulement de l'enfant, mais de tous les organes examinés à l'autopsie de nombreux animaux infectés expérimentalement, *jamais les corps de Leishman du Kala Azar infantile ne se rencontrent dans les globules rouges.*

Nous avons vu, dans le sang splénique, des *formes de multiplication* du parasite; celle-ci a lieu par *division longitudinale.* Les figures tout à fait démonstratives sont assez rares sur les frottis.

II. — RECHERCHE DU PARASITE DANS LE PRODUIT DE PONCTION DU FOIE

Nous n'avons jamais observé le moindre accident à la suite de nos ponctions de la rate. Nous avons répété l'opération plusieurs fois chez quelques-uns de nos malades, exceptionnellement même, nous avons fait deux piqûres de l'organe dans une même séance. Deux de nos confrères tunisiens ont ponctionné également sans inconvénient les rates de leurs malades.

Cependant, la piqûre du foie étant *à priori* plus inoffensive que celle de la rate, nous avons étudié, à l'exemple de nos collègues anglais des Indes, ce procédé de diagnostic chez quelques-uns de nos malades afin de nous rendre compte de sa valeur par rapport à la ponction splénique.

Nos recherches ont porté sur 4 enfants. Les résultats obtenus ont été les suivants :

Obs. V. — Ponction faite sur le cadavre par le docteur Cassuto (cas diagnostiqué au moment du décès). Infection intense. Corps de Leishman très nombreux intra ou extracellulaires, gangues. L'aspect du parasite sur les frottis du foie est exactement le même que sur ceux de la rate; nous ne nous arrêterons donc pas à les décrire.

Obs. VI. — Infection intense. Mêmes constatations.

Obs. VII. — Infection au début (4e mois). Un seul corps de Leishman a pu être rencontré sur 4 lames examinées. La ponction de la rate, dans ce cas, a donné des parasites nombreux.

Obs. IX. — Infection intense. La ponction pratiquée par le médecin traitant (docteur Domela) a montré la présence de très nombreux parasites.

En résumé, présence constante, mais, dans un cas, parasites rarissimes. De ces constatations et de leur comparaison avec les résultats fournis par la même recherche pratiquée sur nos animaux d'expérience (un seul résultat négatif chez les chiens infectés), il résulte que la ponction du foie est un procédé généralement très bon, mais qu'il se montre cependant inférieur à la ponction splénique. Dans les cas d'infection légère ou au début, il est possible qu'il ne donne pas de résultats. Or, c'est dans ces cas qu'il serait particulièrement intéressant d'être renseigné. Nous ne croyons donc pas que la ponction du foie soit appelée à remplacer celle de la rate pour le diagnostic du Kala Azar chez l'enfant, du moins dans les cas douteux ou au début.

Nous verrons que ce procédé constitue au contraire la méthode de choix pour suivre la marche de l'infection expérimentale chez les animaux dont la rate, ou bien n'est pas hypertrophiée (chien), ou bien si elle l'est (singe), ne saurait être facilement ponctionnée.

Au point de vue technique, la ponction du foie se pratique de la même façon que la ponction splénique.

III. — RECHERCHE DU PARASITE DANS LE SANG PÉRIPHÉRIQUE

Cette recherche peut être pratiquée, soit directement sur le sang recueilli sur lames, soit sur le même produit citraté, puis centrifugé, en examinant dans ce cas la couche supérieure du culot, constituée principalement par les globules blancs et les hématoblastes.

Nous exposerons plus loin la technique de ce dernier procédé et les résultats qu'il nous a fournis pour la recherche des corps de Leishman chez les animaux d'expérience. Sauf, dans un cas négatif, nous ne l'avons jamais utilisé pour déceler la présence du parasite chez les enfants infectés. Nous nous sommes contentés de faire cette recherche sur les frottis du sang.

Nos examens ont porté sur sept malades (1); chez un seul dont le sang a été observé à trois reprises (obs. I) nous avons rencontré et une seule fois un grand mononucléaire porteur de cinq corps de Leishman. Plus heureux relativement que nous, Cathoire, dans son unique cas, aurait trouvé des parasites dans le sang de son malade.

(1) Résultat négatif également dans le cas 12, inédit.

La présence des corps de Leishman, étant aussi inconstante dans le sang, leur recherche ne saurait constituer un moyen de diagnostic de la maladie chez l'enfant.

DIAGNOSTIC PAR LA CULTURE EN MILIEU APPROPRIÉ DES PRODUITS DE PONCTION DE LA RATE ET DU FOIE

Nous exposerons plus loin comment nous sommes arrivés à cultiver sur milieux spéciaux le parasite du Kala Azar. Il est aisé d'obtenir cette culture en partant du liquide de ponction de la rate ou du foie des malades. Dans tous les cas où nous avons tenté cette culture, les résultats ont été positifs.

Culture avec le produit de ponction splénique : obs. I, II, IV, VI.

Culture avec le produit de ponction hépatique : obs. VI et VII; il est à noter que dans ce dernier cas la présence des parasites était rarissime, puisqu'un seul corps de Leishman avait pu être retrouvé sur quatre lames examinées.

Il nous paraît tout à fait probable que la culture des produits de ponction splénique et hépatique donnerait un résultat plus constant pour le foie et plus précoce pour la rate que l'examen microscopique.

Aux premiers temps de la maladie, ce serait sans doute le *procédé de choix*. Malheureusement, il ne peut être mis en pratique que par quelqu'un déjà rompu à la technique de culture des protozoaires.

Nous n'avons tenté la culture du sang périphérique sur milieu approprié que dans un cas (obs. XI); le résultat négatif est sans valeur, la ponction de la rate chez le même malade ayant été blanche.

En dehors de la rate, du foie et du sang nous avons recherché sans résultat la présence des corps de Leishman dans le *liquide d'œdème*, *l'urine* et les *selles* du premier de nos malades.

Anatomie pathologique du Kala Azar infantile.

Notre étude est basée sur l'autopsie de *deux cas* (obs. I et VIII). La première de ces autopsies a été partielle; nous l'avons pratiquée avec le docteur Cassuto au domicile de la petite malade. Nous ne saurions être trop reconnaissant à la famille qui a su comprendre

l'intérêt de nos recherches et qui a consenti à les autoriser. La seconde autopsie a été faite par le docteur Porot à l'hôpital civil de Tunis; notre confrère a bien voulu nous en communiquer les résultats et nous confier une partie des pièces recueillies.

I. — CONSTATATIONS MACROSCOPIQUES

Obs. I. — Présence d'une notable quantité de liquide dans la cavité péritonéale.

Rate énorme, elle remplit une bonne partie de la moitié gauche de l'abdomen en avant et sa presque totalité en arrière. Pas d'adhérences. Les ponctions (quatre) n'ont laissé aucune trace à la surface de l'organe.

Ses dimensions sont de 18 centimètres de hauteur, 11 en largeur, 4 pour la grande épaisseur. La partie la plus épaisse de la rate est son extrémité supérieure, surtout en arrière; le bord antérieur et l'extrémité inférieure sont aplatis et minces. La couleur est brune, la consistance assez friable; le poids atteint 480 grammes. Deux encoches sur le bord postérieur.

Le *foie* est à peine augmenté de volume, ferme, de couleur normale à la surface et à la coupe.

Le *rein* gauche d'aspect normal, pèse 62 grammes. *Pancréas* sain. *Ganglions mésentériques* un peu gros, roses sur la coupe.

Un *segment d'intestin grêle* examiné (1^m,50 portant sur le jéjunoiléon) ne montre ni ulcérations, ni congestion; les plaques de Peyer ont leur aspect ordinaire.

Une languette du poumon droit, extraite par une incision pratiquée au travers du diaphragme, donne par expression un peu de liquide spumeux, mais le tissu n'est pas congestionné et la languette flotte sur l'eau. On ne peut dire, à proprement parler, qu'il y ait œdème pulmonaire. Il existe un peu de liquide dans la cavité pleurale.

Obs. VIII. — L'enfant, dans ce cas, est mort de diphtérie laryngée compliquée de bronchopneumonie.

Appareil respiratoire. — Lésions de *bronchopneumonie* pseudo-lobaire. En outre, suppuration bronchique avec bronchite pseudomembraneuse, surtout marquée au poumon gauche. Les poumons pèsent 180 grammes (le gauche) et 160 (le droit).

Le *foie*, gros, 850 grammes, uniformément hypertrophié, descend jusqu'à l'ombilic, surface lisse sans périhépatite; cou-

leur plutôt pâle, consistance normale; aspect uniforme à la coupe, un peu gros.

Rate très grosse, uniformément hypertrophiée, ayant gardé sa configuration et ses encoches normales; pas de périsplénite; ferme à la coupe, sans sclérose, couleur rouge sombre. Dimensions 14×8,5×3; poids 230 grammes.

Intestin normal; *ganglions mésentériques* un peu gros. Pas d'ascite.

Reins (65 et 60 grammes) gros, pâles, lésions de néphrite parenchymateuse aiguë. *Capsules surrénales normales. Myocarde* un peu pâle. *Moelle osseuse* (fémur) *rouge.*

II. — ÉTUDE MICROSCOPIQUE. LOCALISATIONS DU PARASITE.

FROTTIS. — Les résultats ayant été sensiblement les mêmes dans les deux cas, nous en donnons une commune description, nous bornant à relever seulement les quelques légères différences observées.

Rate. — L'aspect est le même que sur les préparations recueillies pendant la vie. Les corps de Leishman sont en nombre considérable. La majeure partie se rencontre dans des cellules *mononucléaires* de toutes dimensions, dont le noyau peut quelquefois être fragmenté, mais qu'il n'est pas possible de confondre dans ce cas avec des polynucléaires en raison des caractères de leur protasplasma. Les cellules les plus parasitées peuvent contenir jusqu'à 50 et 80 parasites (moins dans le cas cas VIII). On rencontre des parasites *isolés* et d'autres inclus dans des débris cellulaires (*gangues*) de dimensions et d'aspect variables, mais dont l'origine leucocytaire est manifeste.

Jamais nous n'avons trouvé de corps de Leishman dans des polynucléaires véritables (neutrophiles), *des lymphocytes ou des globules rouges.* Les parasites n'occupent jamais le noyau des cellules qu'ils ont envahies. Les *formes de multiplication* sont les mêmes que sur les frottis recueillis pendant la vie.

Foie. — Les parasites, toujours moins nombreux que sur les frottis de rate, se présentent à cela près avec des caractères identiques. Ils sont contenus dans des mononucléaires presque toujours très volumineux, bien plus rarement dans des débris cellulaires (gangues); on en rencontre peu de libres.

Les mononucléaires du foie peuvent héberger un nombre de corps de Leishman aussi considérable que les cellules les plus parasitées de la rate.

Moelle osseuse. — (Examinée dans le cas VIII seulement). Nombre considérable de corps de Leishman, libres ou plus souvent contenus dans des mononucléaires. Absence de parasites dans les polynucléaires et globules rouges.

Ganglions mésentériques. Corps de Leishman exceptionnels.

Capsule surrénale (obs. VIII). — Absence de parasites.

Poumons. — Corps de Leishman exceptionnels. Dans le cas VIII, infiltration leucocytaire intense, streptocoques.

Reins. — Parasites exceptionnels.

Pancréas. Intestin grêle (obs. I). — Absence de corps de Leishman.

COUPES. — L'étude des coupes confirme les résultats donnés par l'examen des frottis. Nous ne trouvons d'intéressant à relater que les constatations faites sur la rate et le foie.

Rate. — Les cellules mononucléaires ou leurs débris constituent l'habitat exclusif des corps de Leishman; ces cellules paraissent appartenir à l'endothélium des capillaires sanguins; il ne semble y avoir que peu de parasites réellement libres.

Foie. — Les parasites sont exclusivement contenus dans les cellules endothéliales des vaisseaux, principalement dans des capillaires (pl. XIV, fig. 2 A et B). Ces cellules prennent souvent des dimensions considérables et font saillie dans la lumière du vaisseau qu'elles peuvent réduire à l'état d'une simple fente (fig. 2 B); elles contiennent un nombre variable et souvent énorme (50 et plus) de corps de Leishman, parfaitement reconnaissables à leur forme, leurs dimensions et la présence du noyau et du centrosome.

La réduction de la lumière des vaisseaux du foie est sans doute la cause du développement de la circulation veineuse collatérale observé sur la paroi abdominale de nos malades.

La seule lésion histologique de l'organe que nous avons notée consiste dans une *infiltration leucocytaire* sous forme de *nodules périvasculaires.* Il ne nous paraît pas utile de parler des autres lésions rencontrées au microscope, elles étaient à peu près nulles sur l'enfant I et celles que nous avons observées sur l'enfant VIII relevaient d'une infection secondaire (diphtérie compliquée de bronchopneumonie) et non du Kala Azar.

La *méthode de coloration* qui nous a donné les meilleurs résultats pour les coupes, consiste dans l'emploi de la solution de Giemsa (1 goutte pour 1 c. c. d'eau distillée, laisser agir 30 à 40 minutes) suivi d'un lavage à l'eau, puis de l'insolubilisation par la solution de tannin à 2 0/0.

III. — CONCLUSIONS

En résumé, les lésions caractéristiques du Kala Azar infantile consistent à l'œil nu dans une hypertrophie énorme de la rate, notable mais moindre du foie et dans la coloration rouge de la moelle des os. Les parasites sont extrêmement nombreux dans ces trois organes, exceptionnels ou très rares dans les autres.

Ils se montrent presque exclusivement contenus dans des cellules mononucléaires de dimensions variables, souvent énormes; ces cellules semblent en majorité appartenir à l'endothélium vasculaire.

On ne trouve jamais de corps de Leishman dans les globules rouges du sang.

Nous retrouverons ces mêmes données lorsque nous parlerons des constatations faites à l'autopsie des animaux spontanément malades (chien) ou infectés expérimentalement (chiens, singes). Chez eux, de même que chez l'enfant, le Kala Azar se présente comme une infection des mononucléaires de la rate, du foie et de la moelle osseuse. Nous noterons cependant chez quelques animaux la présence possible de parasites dans des cellules où nous ne les avons jamais rencontrés chez nos malades (polynucléaires, cellules hépatiques.)

Rapport du Kala Azar infantile avec le Kala Azar des Indes et certaines anémies infantiles des pays méditerranéens.

Le bref tableau clinique que nous avons donné, au début de cet article, du Kala Azar indou contient cependant les symptômes essentiels de cette maladie. Il suffira de s'y reporter pour voir qu'il y a identité clinique entre l'infection observée aux Indes anglaises et celle que nous avons étudiée en Tunisie. Il ne faut pas en effet s'attarder au symptôme qui a fait donner à la maladie son nom par les indigènes de l'Inde. Leur observation a été aussi superficielle que grossière, et si le malade indou ne

paraît pas aussi pâle que l'enfant tunisien ce n'est là sans doute qu'un effet dû à la pigmentation normale de sa peau. Il nous paraît inadmissible que celle-ci reste colorée dans une infection aussi anémiante que l'est le Kala Azar des Indes.

Une seule différence sépare la maladie indoue de la tunisienne; elle nous paraît capitale et légitime à nos yeux la conception du Kala Azar de Tunisie comme une affection autonome; c'est, nous l'avons déjà dit, *l'âge des malades* : le Kala Azar des Indes ne connaît pas d'âge; adultes, adolescents, enfants sont également frappés; sur les cas observés en Égypte, trois concernent des adultes, le quatrième un garçon de 14 ans; le cas plus récent de Crète est celui d'un soldat. Or, en Tunisie, malgré des recherches systématiques, dirigées aussi bien du côté des adultes que de celui des enfants, nous n'avons pu recueillir que des observations sur des sujets en bas âge appartenant presque tous à la première enfance. Nos observations atteignent actuellement un total de 11 (1). Ce chiffre est encore limité, il nous paraît cependant impossible d'admettre que seul le hasard ait fourni uniquement jusqu'à présent à notre examen de jeunes enfants. Jusqu'à démonstration du contraire, et l'existence en Tunisie de cas chez l'adulte n'y suffirait pas, car les deux maladies, la classique (type indou) et l'infantile (type tunisien) pourraient se rencontrer à la fois et se rencontrent sans doute dans un même pays (l'Égypte par exemple), jusqu'à preuve du contraire, nous continuerons à considérer la maladie observée par nous en Tunisie sur les enfants, comme différente de l'infection décrite antérieurement dans les Indes. C'est pour cette raison que nous lui avons donné un nom spécial, celui de *Kala Azar infantile.*

Il est permis de se demander sous quelle étiquette étaient rangées, avant que nous en ayons démontré la nature, les observations tunisiennes identiques à celles que nous venons de décrire. Le Kala Azar, affection de connaissance asiatique, était inconnu il y a quelques années à peine. Sans doute, un certain nombre de cas observés antérieurement en Tunisie étaient considérés comme appartenant au paludisme. Cependant, l'impuissance constatée de la quinine sur la fièvre devait frapper le médecin et l'hypothèse de paludisme se trouvant écartée de ce fait, les cas analogues aux nôtres ne pouvaient prendre place que dans le groupe mal connu

(1) La 12e observation inédite concerne un enfant de 2 ans et 9 mois.

et mal délimité des *anémies spléniques infantiles*. En pays non paludéen, ce diagnostic s'imposait, pour ainsi dire, d'emblée.

Si nous voulons donc savoir où retrouver les observations anciennes de Kala Azar infantile, c'est parmi les anémies spléniques de l'enfance que nous devons les chercher. De même, pour trouver aujourd'hui, en dehors de la Tunisie, des cas nouveaux, ce sont les malades classés dans ce groupe qu'il conviendra d'étudier.

Arrêtons-nous donc un instant aux travaux publiés antérieurement sur les anémies spléniques infantiles; nous y trouverons quelques faits d'observation et une conception sans doute un peu prématurée dans sa base scientifique, mais parfaitement exacte dans son expression de la nature de certains cas d'anémie à grosse rate de l'enfance.

L'anémie splénique infantile, décrite pour la première fois par Hénoch (1881), est également désignée sous les noms d'anémie splénique infectieuse, anémie pseudo leucémique des enfants. Elle a fait l'objet d'un grand nombre de travaux, principalement en Italie, où la maladie paraît être plus fréquente ou mieux connue. Parmi les auteurs qui l'ont plus spécialement étudiée nous devons citer F. Fede (1) qui lui a consacré une série de publications à partir de l'année 1888, G. Somma (2), V. Jaksh (3), enfin Pianese (4).

L'anémie splénique infantile est une affection des tout jeunes enfants (1re et 2e années). Fede distingue deux formes, l'une fébrile, l'autre non fébrile. Cette dernière qui correspond au type décrit par Hénoch n'offre pour nous aucun intérêt; nous ne nous y arrêterons pas.

(1) Francesco Fede, *Riforma medica*, 2e et 3e leçons inaugurales, 1888-1889; *Academia Medico-chirurgica di Napoli* (1889 et 1890); *Congresso dell' Associazione Medica in Padova*; 1° *Congresso it. de pediatria a Roma* (octobre 1890); *la Pediatria*, 1re année, 1er numéro, 1893. Les idées de Fede sur l'anémie splénique infantile qu'il nomme *anemia spenica infettiva* sont exposées en détail dans ce dernier article et résumées dans les commentaires dont il accompagne sa traduction du *Traité des Maladies des enfants de Baginsky* (2e édition italienne, p. 333 et suivantes. Vallardi éditeur, Milan); il faut ajouter à cette liste les travaux de plusieurs élèves de Fede, Cima, *la Pediatria*, 1902, n° 10; Petrone, *la Pediatria*, 1905; nos 5 à 10; et *Arch. de med. expérim.* 1907, n° 6 etc. Nous remercions vivement M. le professeur Fede qui a bien voulu nous communiquer la presque totalité de ces travaux.

(2) Somma, *Dell'anemia splenica infantile*, Naples, 1890. Cette monographie paraît épuisée.

(3) V. Jaksh, *Prager. med. Wochenschrift*, 1890.

(4) G. Pianese, *Sull' anemia splenica infantile*. Communicazione con dimostrazione de preparati, fatta alla 20 reunione dei Patologi in Roma, maggio, 1905. Extrait de la *Gazette internazionale di medicina*, année VIII, Naples 1905. Imprimerie du journal, via Pellegrini a Toledo 5.

La seconde forme, la seule importante au point de vue qui nous occupe se caractérise, pour Fede, par une fièvre très irrégulière, de type variable, continue, renitente ou intermittente, procédant par poussées alternant avec des périodes d'apyrexie, et durant des mois. Il existe des troubles gastrointestinaux, en particulier de la diarrhée, quelquefois de l'ictère. La rate est volumineuse, le foie hypertrophié. Les lésions sanguines consistent dans la diminution du nombre des globules rouges (1,600,000 dans certains cas); le nombre des globules blancs et la formule leucocytaire seraient variables; les éosinophiles sont absents. La maladie se termine généralement par la mort. L'autopsie ne montre rien de bien spécial. Dans ses deux formes, l'anémie splénique infantile se distingue des anémies leucémiques par l'absence de toute hypertrophie ganglionnaire.

L'étiologie en est obscure; Cardarelli en aurait rencontré plusieurs cas chez des enfants de la même famille (1).

Nous sommes portés, d'après ce que nous avons lu, à considérer l'anémie splénique infantile comme une étiquette sous laquelle se cachent des maladies diverses que le progrès de nos connaissances nous apprendra à différencier, ce que nous ne savons encore faire actuellement.

Pianese, dont l'opinion se rapproche de la nôtre, donne des cas observés par lui, une description brève et générale qui permettrait de les ranger plutôt dans la seconde classe de Fede.

Les premières recherches expérimentales pratiquées sur l'anémie splénique infantile ont fait attribuer cette maladie à diverses bactéries isolées de la rate à l'autopsie. Pianese avait autrefois décrit comme agent causal de l'infection un microbe qu'il identifie aujourd'hui avec le *Bacterium coli*. Il fut conduit à abandonner sa première hypothèse à la suite des résultats que lui fournit l'autopsie d'un jeune enfant, pratiquée dans des conditions exceptionnelles, une heure seulement après la mort. Les cultures faites avec la pulpe splénique restèrent stériles; il n'existait dans les organes aucune bactérie libre, tandis que certaines cellules de la rate, du foie et de la moelle des os, étaient remplies de granulations spéciales se teignant par les couleurs basiques.

(1) *Boll. dell' Acad. medicochirurgica di Napoli*, II, année 1890. On peut rapprocher de cette constatation ce fait que le Kala Azar, dans certaines régions de l'Inde, paraît épidémique.

Dans quatre autres cas plus tard, Pianese retrouva des figures analogues. Par contre, l'examen de sept autres malades ne lui donna que des résultats négatifs.

Les corpuscules intracellulaires observés par Pianese sont pour lui des éléments de nature spéciale. Ils mesurent de 3 à 4 μ. Leur structure, mal visible lorsque ces corps sont très nombreux et en contact, devient au contraire manifeste lorsqu'ils sont rares et écartés; on leur reconnaît alors un nucléole central arrondi, bien délimité, basophile et un protoplasma acidophile, tantôt homogène, tantôt granuleux, nettement entouré par une membrane. Ces corps sont généralement arrondis, le nucléole dans ce cas, occupe une position centrale, mais ils peuvent être ovales ou piriformes, le nucléole devient alors excentrique. Sur certains éléments plus allongés, il prend même la forme d'un bâtonnet. On peut compter jusqu'à 50 corpuscules par cellule; leurs dimensions, égales chez un même hôte, varieraient d'une cellule à l'autre. Les éléments parasités mesurent de 25 à 30 μ, leur noyau présente des altérations variées; ils siègent dans la pulpe splénique entre les lacunes sanguines ou autour d'elles, jamais dans les follicules; dans le foie, ils sont toujours situés entre les capillaires sanguins; dans la moelle osseuse, ils n'offrent pas de disposition spéciale. Groupés dans la moelle des os et dans la rate, ils sont presque toujours isolés dans le foie. En raison de leurs caractères, l'auteur les considère comme des cellules endothéliales plus ou moins modifiées. Le sang périphérique ne présente ni corpuscules libres, ni cellules parasitées.

Cette description donnée, Pianese discute sur la nature de ces corps. Il se refuse à y voir des produits d'origine cellulaire ou des bactéries. Il incline plutôt à penser que ce sont des protozoaires et comme il vient d'avoir connaissance des travaux de Leishman et Donovan, ses doutes font place à une brusque certitude et il conclut à l'identité de ces corpuscules avec les formes parasitaires décrites dans le Kala Azar. D'où le titre significatif donné à son travail : *Anemia splenica infantile. Anemia infantum Leishmania.*

Il suffit de rapprocher ces constatations des descriptions que nous avons données de nos cas pour se rendre compte qu'il y a entre elles une très grande analogie, mais que les préparations de Pianese, colorées par une méthode imparfaite, ne pouvaient

entraîner une conviction définitive; le noyau et le centrosome, si caractéristiques des corps de Leishman, n'ont pas été observés par l'auteur mais plutôt confondus et décrits comme les formes variables d'un même et unique nucléole.

Les déductions de Pianese n'en sont pas moins justes. De bonnes observations cliniques et de constatations microscopiques incomplètes, il a tiré une conclusion exacte. Nos recherches en apportent la démonstration indiscutable. A deux reprises, nous avons demandé à M. Pianese de vouloir bien nous adresser de ses préparations; nous regrettons qu'il n'ait pu le faire. Nous aurions été heureux de les comparer avec les nôtres. Quoiqu'il en soit du doute qui doit subsister encore dans l'esprit, le travail de M. Pianese nous paraît mériter d'être inscrit en tête d'une étude du Kala Azar infantile et nous pensons que cette affection dont l'existence est démontrée d'une façon surabondante en Tunisie, se rencontre également dans le sud de l'Italie et sans doute sur bien des points du littoral méditerranéen. Il est en tout cas indiqué maintenant de l'y chercher (1).

Culture de « Leishmania infantum ».

HISTORIQUE

C'est à Rogers (*Lancet*, 23 juillet 1904) que revient le mérite d'avoir le premier obtenu le développement sur milieu artificiel des corps de Leishman isolés du Kala Azar des Indes. Ses premières cultures étaient faites par l'ensemencement du produit de ponction splénique en sang citraté à 10 0/0; les tubes étaient mis ensuite à 27° ou mieux à 22°. Nous renvoyons aux différents articles publiés par Rogers pour l'étude des conditions et des caractères de culture de ce parasite. (*British Med. Journ.*, 17 septembre 1904; *Quarterly Journ. of micr. Sc.*, 3 novembre 1904.)

Ces résultats ont été confirmés par Chatterjee (*Lancet*, 3 décembre 1904 et 5 janvier 1905), Leishman et Statham (*Journ. R. Army Med. Corps*, mars 1905), Christophers (*Scient. Mem.*

(1) Postérieurement à la date de rédaction de cet article, nous avons reçu deux publications du Prof. Gabbi (de Messine) qui avait observé treize cas de Kala Azar (dont douze chez l'enfant) aux environs de Messine et Reggio ainsi que dans les îles Lipari. La ponction de la rate, pratiquée chez trois malades seulement, aurait donné deux fois un résultat positif. Un de ces cas se rapporte à un jeune homme de 18 ans. Cette observation a besoin, à notre avis, d'être confirmée. Nous reviendrons, dans une publication ultérieure, sur ces travaux.

Gov. of Ind., 1905) et Mackensie (*Journ. R. Army*, novembre 1905).

Dans ses communications les plus récentes (*Lancet*, 3 juin 1905 et *Proc. Roy. Soc.* 26 février 1906), Rogers préconise l'addition au sang citraté d'une petite quantité de solution d'acide citrique.

Sur ces milieux, les résultats sont inconstants, la culture ne vit qu'un temps assez court (1 à 2 semaines) et un repiquage positif n'a été obtenu que dans un cas (Leishman et Statham).

Nous avons essayé vainement de cultiver nos parasites dans le milieu de Rogers (sang de lapin citraté additionné d'acide citrique). Deux tentatives, pratiquées avec le produit de deux ponctions de la rate chez notre premier malade ne nous ont donné que des résultats négatifs. A la température de 22°, les parasites se sont conservés pendant sept jours avec leurs caractères ordinaires sans subir de modifications appréciables, mais sans se multiplier. Au huitième jour, ils ont commencé à s'altérer, pour devenir méconnaissables à partir du douzième jour.

Les ensemencements dans l'eau de condensation de tubes de gélose au sang (*milieu de Novy et Mac Neal*) nous ont donné au contraire d'emblée une culture positive (produit de ponction splénique du 27 novembre) chez notre premier malade. Nous avons réussi depuis d'une façon constante les cultures toutes les fois que nous les avons essayées, en ensemençant sur ce milieu le produit de ponction de la rate ou du foie de nos malades ou de nos animaux d'expériences. Roger savait dit cependant n'avoir pu obtenir sur le même milieu le développement du parasite du Kala Azar indou.

TECHNIQUE DE LA CULTURE

Nos premières cultures ont été faites sur le *milieu classique de Novy et de Mac Neal* : eau de condensation de tubes de gélose ordinaire au sang. Nous avons eu l'idée depuis de simplifier ce milieu en supprimant la viande et la peptone. La neutralisation devient de ce fait inutile. Ce milieu n'est pas seulement plus simple que le milieu de Novy, il est aussi de composition et de réaction plus constantes. Il convient aussi bien que lui, sinon mieux, à la culture des protozoaires. En dehors du parasite du Kala Azar, nous avons pu y cultiver et y entretenir depuis plus d'un an le trypanosome de la chauve-souris (*T. vespertilionis*). Nous avons réussi également sur lui, le premier, la culture du protozoaire du bouton d'Orient. Une condition indispensable à la fabrication du milieu est, ainsi que nous nous en sommes rendus compte avec M. Manceaux, la *pureté de l'agar*. Il convient donc tout d'abord de débarrasser par un lavage dans l'eau la gélose dont on doit faire usage des sels ou impuretés de toutes sortes qu'elle contient. On y parvient en la laissant macérer dans l'eau froide pendant 24 heures et en changeant l'eau une fois. On tient compte naturellement de la quantité d'eau absorbée par l'agar pendant sa macération.

Notre milieu a la formule suivante :

Gélose	14 grammes
Sel marin	6 grammes
Eau	900 c. c.

Il est réparti dans des tubes à essais de diamètre assez gros, sans neutralisation ou alcanisation préalable, puis stérilisé à l'autoclave. Les tubes, liquéfiés à 48-52° sont additionnés chacun *d'un tiers de leur volume de sang de lapin* prélevé par ponction aseptique du cœur. On les incline pendant une douzaine d'heures pour les porter ensuite pendant 2 ou 3 jours à l'étuve à 37°. On les conserve dans l'obscurité à la température ordinaire; il est préférable de n'en faire usage qu'au bout de quelques jours. Ils conservent leurs qualités nutritives pendant plus d'un mois. Un inconvénient de ce milieu est la petite quantité d'eau de condensation qu'il présente; la culture obtenue ne dépasse guère un à deux centimètres cubes en volume. En outre, ce liquide peu abondant a tendance à s'évaporer plus ou moins totalement; on y remédie en fermant les tubes à la cire avant de les mettre à l'étuve pour les éprouver.

Nous avons obtenu récemment de bons résultats en additionnant, avant cette mise à l'étuve, l'eau de condensation des tubes avec un volume égal de sérum physiologique. La culture se fait sensiblement aussi bien dans ce cas; la masse de liquide étant plus grande, celui-ci se dessèche moins; il devient ainsi inutile de faire usage de la cire dont l'emploi est toujours une complication désagréable au moment de l'ouverture, du flambage et de la fermeture des tubes. Il est prudent cependant de ne pas dépasser la quantité de sérum physiologique que nous

venons d'indiquer; si cette quantité atteignait le double du volume de l'eau de condensation, la culture ne se ferait pas ou très mal et les protozoaires ensemencés prendraient des dimensions énormes pour périr rapidement de cette hydropisie.

Nous désignons notre milieu, simplification de celui de Novy et Mac Neal, sous la triple initiale N. N. N.

Les ensemencements se font soit à la pipette, soit au fil de platine. Les tubes doivent être mis à l'étuve à 18-22°.

MORPHOLOGIE DU PARASITE DANS LES CULTURES

(Pl. XV, fig. 6-14.)

Sur notre milieu comme sur celui de Novy et Mac Neal, à la température indiquée, le développement commence vers le 4e ou 5e jour; la culture est déjà assez abondante au 7e jour; elle est abondante vers le 15e; elle continue à s'enrichir jusqu'au 30e jour; mais déjà, à ce moment, les formes immobiles prédominent. Sa vitalité ne semble pas dépasser généralement 1 mois 1/2. Il est prudent pour éviter des insuccès dans les repiquages de pratiquer ceux-ci tous les 15 ou 20 jours.

Ces repiquages sont aisés; nous avons pu en pratiquer plus de vingt avec notre culture primitive (cas I); un accident nous a fait la perdre pendant les vacances dernières, mais le professeur Novy auquel notre ami M. Mesnil en avait adressé un exemplaire a pu conserver jusqu'à ce jour des cultures provenant de cette première souche. Nous possédons actuellement des cultures des souches plus récentes qui comptent une dizaine de passages.

On peut affirmer que, sauf accident, ces cultures sont indéfiniment repiquables. Il en est ainsi de celles de la *Leishmania* du bouton d'Orient. Sur le milieu N. N. N., comme sur le milieu de Novy et Mac Neal, l'élément le plus jeune en culture est un corps presque identique aux formes qui se voient dans l'organisme humain; il est seulement d'un volume plus considérable, double ou triple ordinairement (fig. 6); on reconnaît facilement le *noyau* et le *centrosome*, tous deux de dimensions un peu plus grandes. Le parasite, à ce stade, est arrondi, ovalaire ou piriforme. Un état plus avancé est celui que représente la figure 7; même aspect, mêmes dimensions (16 μ sur 12 sur la figure), même structure intérieure; on observe seulement de plus la présence d'un *flagelle* plus ou moins long, en général un peu plus long que le

parasite lui-même. L'origine de ce flagelle est, sur certains individus, très manifestement en rapport avec le centrosome.

Aux stades plus avancés, le parasite s'éloigne de plus en plus de l'aspect qu'il présentait dans l'organisme pour revêtir celui d'un flagellé typique. Les figures 8, 9, 10, 11, 14 montrent les formes, les dimensions et les variétés de structure qu'on peut alors observer. D'abord court, ovale ou piriforme (8-10), le parasite s'allonge (11-13) jusqu'à devenir très long et très étroit (14). Ses dimensions, suivant ces formes, varient de 8 à 24 μ en longueur sur 4 à 15 μ pour la largeur. Le flagelle offre toujours une longueur égale ou légèrement plus grande que celle du corps. L'extrémité opposée au flagelle (extrémité postérieure), arrondie dans les formes trapues, s'effile de plus en plus jusqu'à devenir quelquefois pointue dans les formes plus longues.

L'aspect et les dimensions des deux corps chromatiques sont peu variables. Le noyau, arrondi ou ovalaire (dans les formes étroites), présente ordinairement dans le premier cas un diamètre de 2 μ; il mesure 3 μ, sur 1 μ 5 dans les formes les plus minces. Le centrosome, toujours en bâtonnet, ne dépasse guère 1 μ en largeur, sa longueur pouvant varier du double au triple.

Ces deux corps sont disposés toujours de même manière, le centrosome du côté du flagelle, le noyau du côté de l'extrémité opposée. Dans ce rapport constant, leur siège précis est très variable. Généralement placés à distance l'un de l'autre, on peut les voir se rapprocher, venir même en contact (nos figures représentent les principales de ces dispositions); ils peuvent, lorsqu'ils sont ensemble, occuper le centre de l'élément ou l'une des extrémités; l'un peut être central, l'autre périphérique ou bien chacun peut siéger vers une extrémité du parasite.

La méthode de Giemsa colore le noyau en violet jamais très intense, le centrosome en rouge vif; le flagelle offre une coloration intermédiaire; le protoplasma se teinte en bleu violacé.

L'épaisseur du cil varie suivant l'intensité ou la durée de la coloration; plus celle-ci est poussée loin, plus le dépôt de matière colorante à la surface du flagelle en augmente le volume apparent.

Les formes de multiplication sont très abondantes dans les cultures, la division longitudinale en est le seul mode. Elle peut se produire à tous les stades de développement du parasite. D'où

des images variées dont quelques-unes sont reproduites par les figures 15, 16 et 17.

La *division* commence tantôt par le noyau, tantôt par le centrosome; il ne semble y avoir aucune règle à cet égard. La séparation du flagelle est un phénomène souvent précoce; néanmoins les corps à deux flagelles sont bien plus rares que dans les cultures de la *Leishmania* du bouton d'Orient, où elles offrent une fréquence qui nous a paru caractéristique de ce protozoaire.

Déjà, sur les cultures datant d'une dizaine de jours, on remarque la présence de quelques *rosaces;* celles-ci deviennent de plus en plus abondantes à mesure que la culture vieillit. Elles se rencontrent surtout au contact de la partie solide du milieu ou vers le fond du tube. *Dans ces rosaces, les parasites sont agglomérés*, leur extrémité antérieure, c'est-à-dire le *flagelle, dirigée vers le centre* de la rosace (voir fig. 18 et 19).

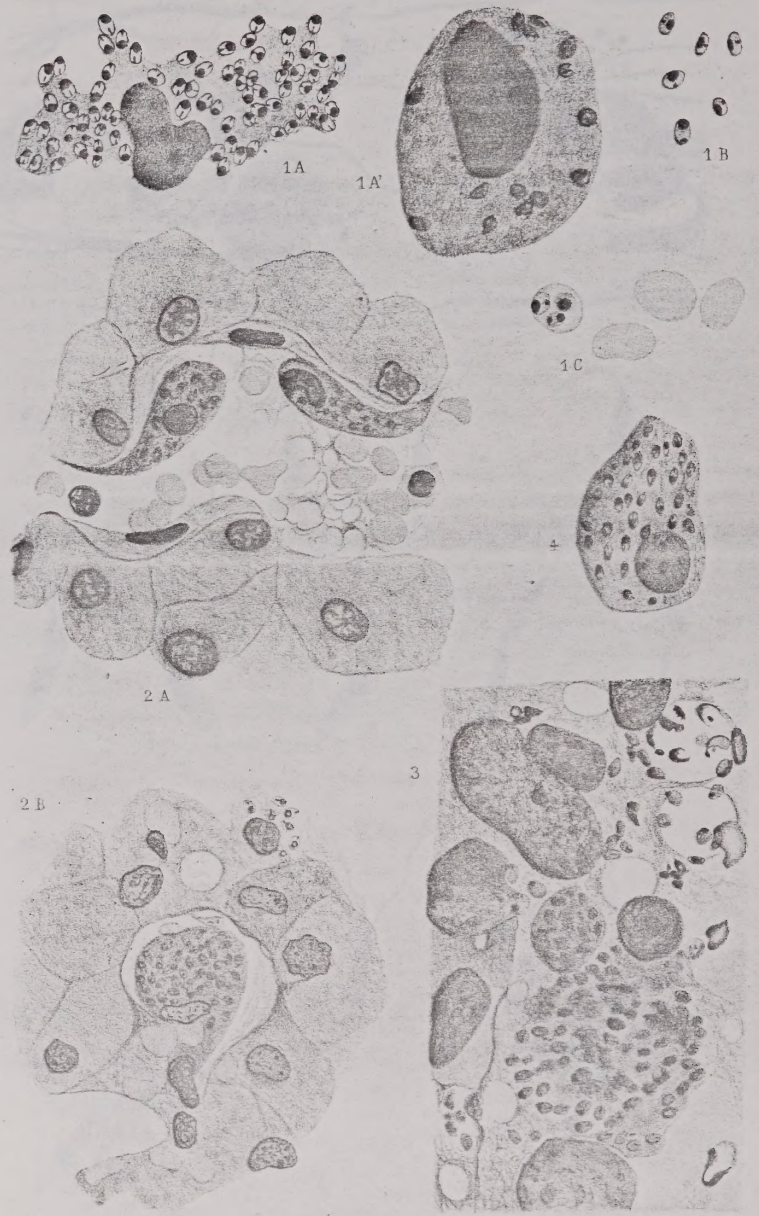
A l'exception des parasites qui siègent au centre de rosaces volumineuses et des individus dégénérés qu'on trouve dans les très vieilles cultures, toutes les formes que nous venons de décrire sont *mobiles. Leur déplacement se fait le flagelle en avant:* il est généralement, sauf pour les formes minces, assez peu rapide; souvent l'infusoire oscille seulement sur place.

Le *cil* se voit très nettement sur les préparations non colorées, il est animé d'un mouvement ondulatoire très rapide qui lui donne, lorsqu'il s'agite, la forme d'une spire.

Sur aucun parasite, nous n'avons vu trace d'une membrane ondulante.

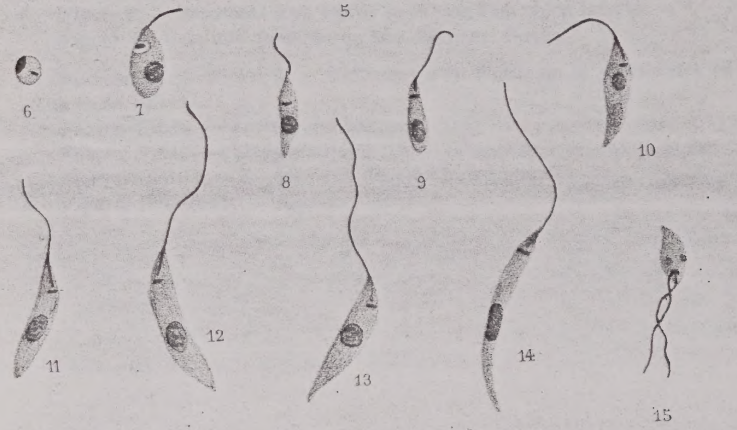
La technique qui nous a donné les meilleurs résultats *pour les préparations colorées*, consiste à recueillir le liquide de culture, à le déposer dans un tube de verre de faible diamètre (pipette) à extrémité conique, à l'additionner de sérum physiologique neuf; on centrifuge; puis on aspire à la pipette les parties supérieures et claires du liquide; on additionne d'une quantité égale de sérum physiologique; on centrifuge à nouveau; puis le dépôt est étendu sur lames; on fixe par l'alcool absolu une heure; on colore enfin par la solution de Giemsa étendue, à la façon d'une préparation de sang.

(*A suivre.*)

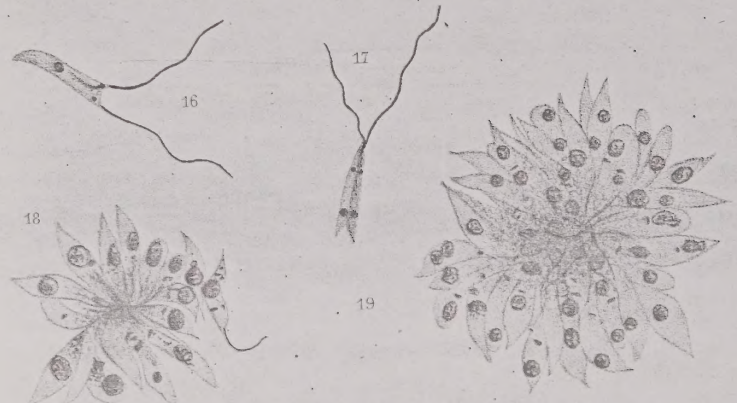


V. Roussel del. et lith. Imp. L. Lafontaine, Paris.

5

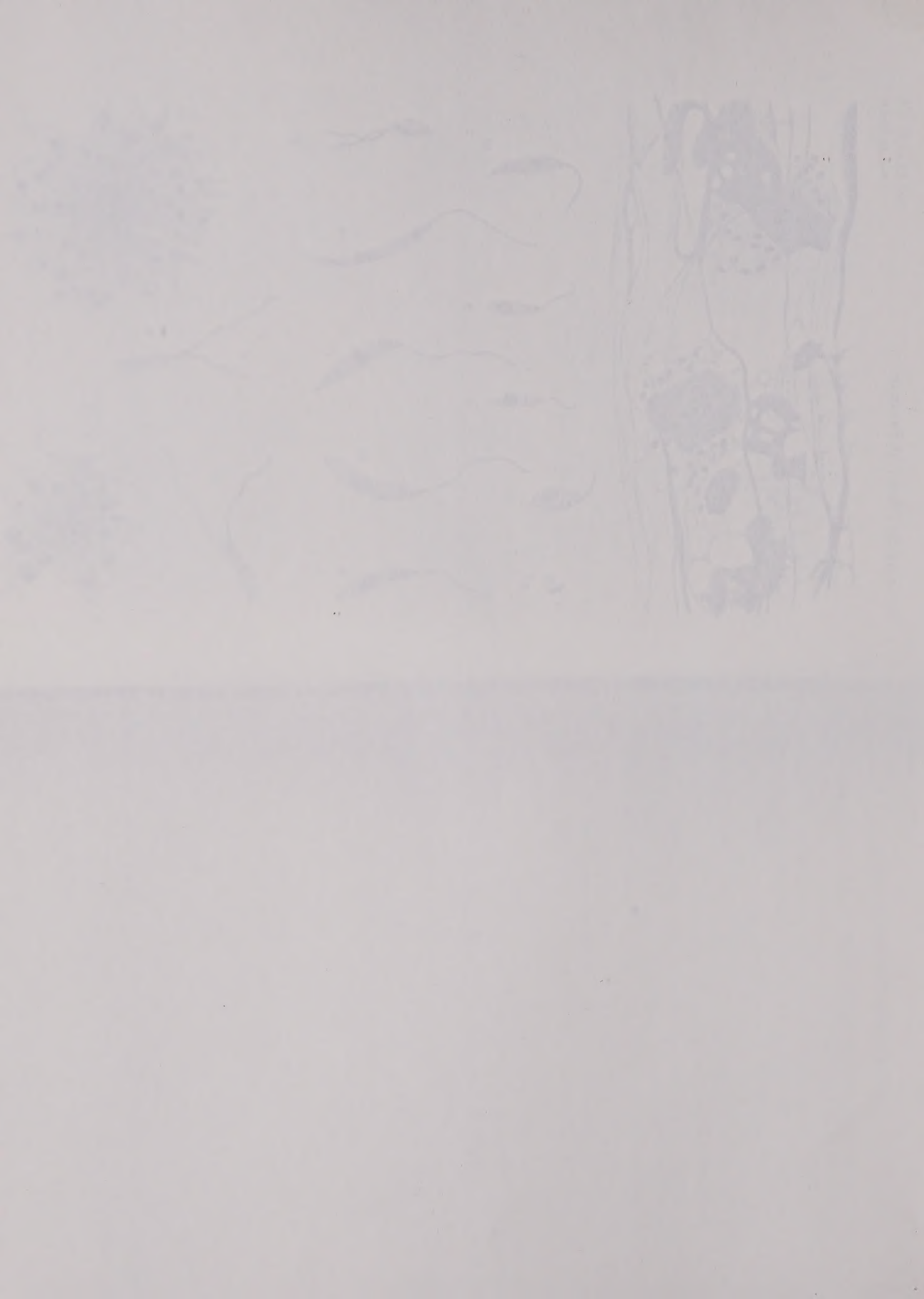


6 7 8 9 10 11 12 13 14 15



16 17 18 19

Y. Rousset del. et lith. Imp. L. Lafontaine, Paris



EXPLICATION DES PLANCHES XIV ET XV

Pour toutes les figures, le grossissement est d'environ 1,000 à 1,200 D.

PLANCHE XIV. — *Figure* 1. — Parasites dans un frottis fait avec le liquide de ponction de la rate chez un enfant. A, cellule de la rate et mononucléaire avec parasites; B, parasites libres; C, parasites dans une gangue.

Figure 2. — Coupe de foie d'enfant montrant des parasites dans les cellules endothéliales. En A, où le vaisseau est coupé longitudinalement, on voit deux cellules parasitées et 2 cellules voisines normales. En B (coupe transversale d'un vaisseau), une cellule endothéliale bourrée de parasites obture presque complètement la lumière.

Figure 3. — Fragment d'un frottis de la rate d'un chien infecté.

Figure 4. — Cellule parasitée du foie du même chien.

PLANCHE XV. — *Figure* 5. — Fragment d'un frottis de la moelle des os d'un chien infecté.

Figures 6 *à* 19. — Formes des cultures.

Figures 6 *à* 17. — Eléments isolés.

Figures 15 *à* 17. — Stades de la division longitudinale.

Figures 18 *et* et 19. — Rosaces.

Nous désirons insister en terminant sur l'erreur à laquelle expose l'appréciation *de la durée* de l'immunité héréditaire chez les animaux ayant résisté à une première épreuve (en général, inoculation intramusculaire de virus). Il est très difficile, au cours de la deuxième expérience, de faire la part de la résistance due à l'immunité héréditaire et à l'immunité active conférée par la première inoculation. L'hypothèse de l'énergique production des anticorps chez les organismes jeunes n'est pas pour diminuer l'importance de ce dernier facteur. L'expérimentateur se trouve placé entre deux écueils. Ou, il recourt à une deuxième épreuve trop bénigne et la durée de l'immunité héréditaire court le risque d'être indûment exagérée. Ou, conscient de ce danger, il croit l'éviter en employant une épreuve si sévère (inoculation sous dure-mérienne de virus fixe) que même une immunité active très forte ne saurait en triompher. Il semble donc que les doubles épreuves soient à éviter. Elles gagneraient à être remplacées par l'inoculation des différents animaux d'une même portée à des intervalles éloignés, et comparativement avec des témoins en nombre aussi grand que possible.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire.

23me ANNÉE JUIN 1909 N° 9

ROYAL SOCIETY
5 JUL
1909

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

Le Kala Azar infantile.

PAR M. CHARLES NICOLLE
Directeur de l'Institut Pasteur de Tunis.

(*Suite et fin.*)

Inoculations. — Reproduction expérimentale de la maladie chez le chien et chez le singe.

I. — INOCULATION DU VIRUS

Guidé par une idée préconçue que nous exposerons plus loin, nous avons d'emblée inoculé à un chien le virus de notre premier malade. Nous avons pratiqué également avec ce virus une inoculation à un singe (bonnet chinois). Chien et singe sont actuellement les seuls animaux chez lesquels le Kala Azar ait pu être reproduit expérimentalement.

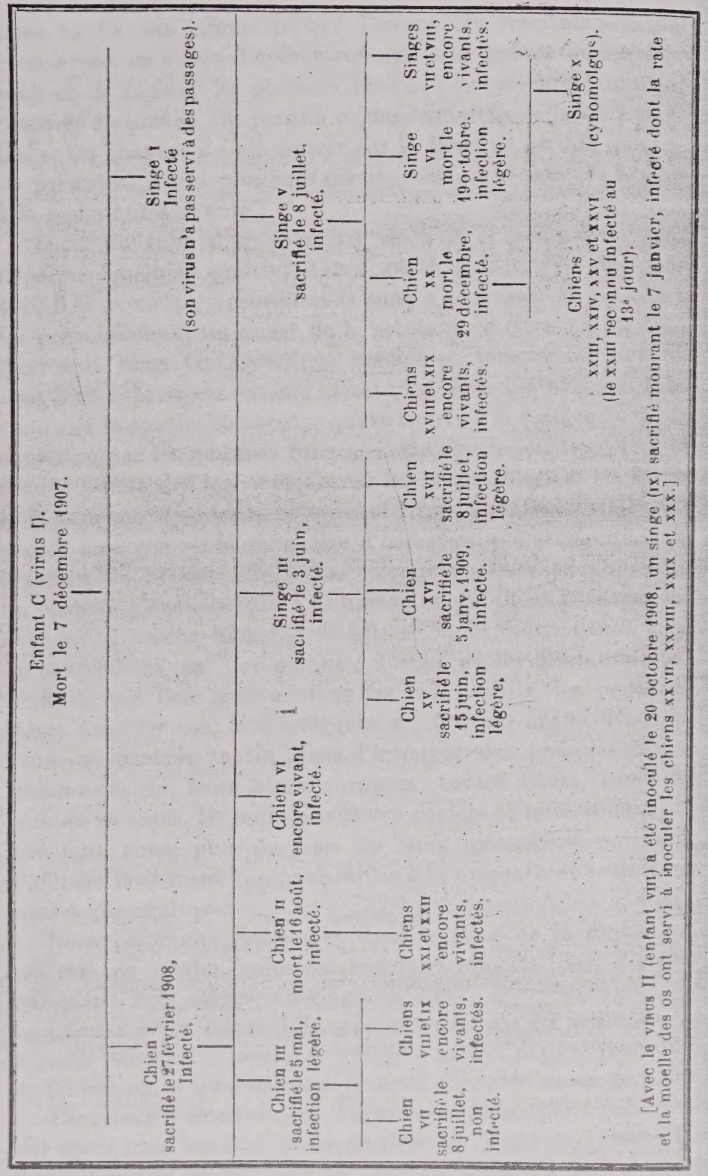
Nous avons obtenu en effet des résultats négatifs, malgré des essais multiples, sur le chat (quatre inoculations), le lapin (deux), le cobaye (quatre), le rat blanc (quatre). Nous croyons inutile d'insister ici sur ces résultats, exposés en détail dans une publication antérieure. (*Arch. de l'Institut Pasteur de Tunis*, 1908, juillet, fasc. III, p. 108 et 109.)

Les virus employés pour nos expériences sont au nombre de deux. Ils proviennent de la rate des enfants I et VIII.

Nous ne rapporterons ici que les expériences faites avec le virus du malade I. Le second virus nous a permis d'inoculer avec succès un singe (singe IX) dont l'observation n'offre rien de spécial; nous avons pratiqué ensuite, avec le virus de ce singe, des passages sur 4 chiens; ces passages ont donné des résultats positifs.

Il nous paraît utile, pour favoriser la lecture de nos expé-

INSTITUT PASTEUR



riences, de présenter tout d'abord ici un tableau des passages de notre virus, avec la désignation sous un numéro d'ordre de nos animaux d'expérience (1).

MÉTHODE A EMPLOYER POUR RECONNAITRÉ ET SUIVRE L'INFECTION EXPÉRIMENTALE CHEZ LES ANIMAUX INOCULÉS PENDANT LEUR VIE

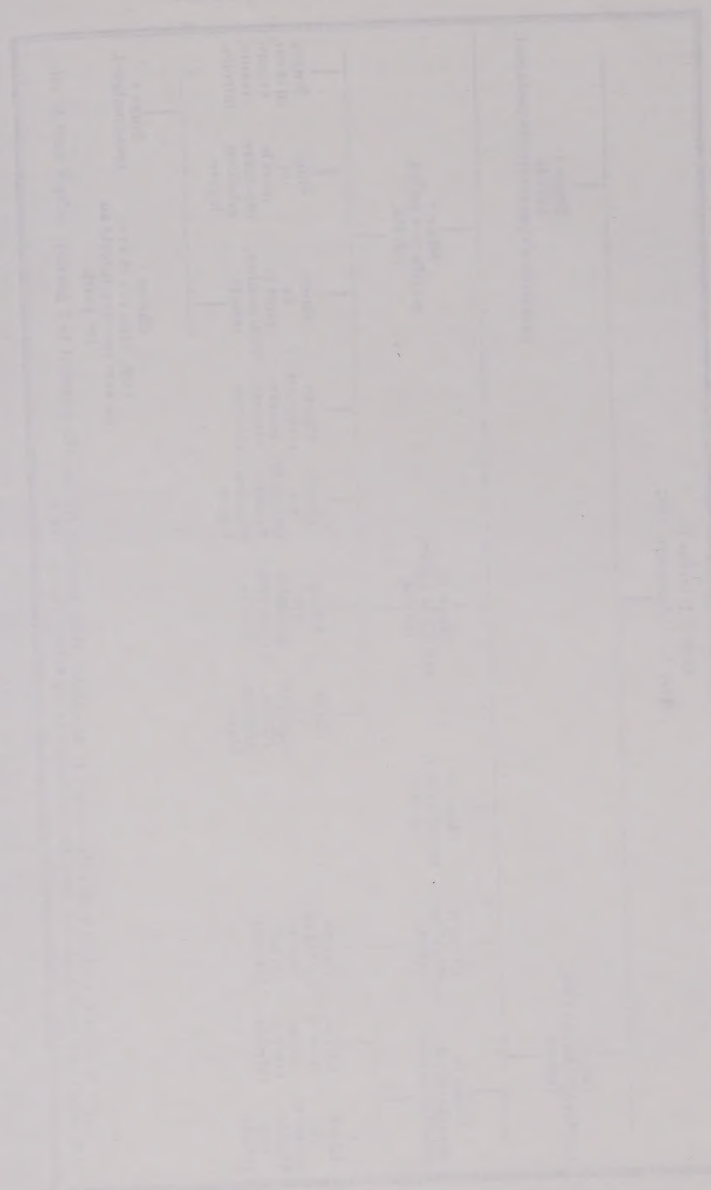
Nous verrons plus loin que le Kala Azar expérimental ne donne lieu souvent à aucun symptôme apparent chez le chien, et que, chez le singe, une fièvre irrégulière, souvent peu élevée, est pendant longtemps le seul signe appréciable. Sur ce dernier animal, la rate peut, à partir d'un certain moment, être perçue par la palpation, car sans présenter l'hypertrophie notable qu'elle offre chez l'enfant, elle augmente très sensiblement de volume; chez le chien, au contraire, l'organe ne subit qu'une hypertrophie des plus faibles et n'est jamais perceptible à la palpation.

Quoiqu'il en soit, chez ces deux animaux la maladie expérimentale ne peut être reconnue cliniquement. Il importait donc de chercher une méthode qui pût permettre de déceler, chez l'animal vivant, la présence des parasites caractéristiques, seule preuve de l'infection; c'est ce que nous avons fait.

Plusieurs procédés pouvaient être tentés. Nous les avons étudiés successivement; on verra qu'ils donnent des résultats bien différents et qu'un seul d'entre eux est à retenir, la ponction du foie.

1° Recherche du parasite dans le sang périphérique. — Nous avons vu plus haut que chez l'enfant atteint de Kala Azar, deux fois seulement sur onze examens portant sur huit malades, la présence de *Leishmania infantum* a pu être reconnue sur lames de sang après coloration. Dans les quelques cas où nous avons recherché ce parasite sur nos animaux d'expérience

(1) Depuis que ce tableau a été dressé (janvier 1909), nous avons fait sur nos animaux d'expérience les constatations suivantes. Le chien VI est toujours infecté (14 mois après l'inoculation), de même que les chiens VIII, IX, XVIIII, XXI, encore vivants ; les chiens XIX, et XXII ont été remis par nous à M. Laveran (le chien XXII, sacrifié à l'Institut Pasteur de Paris en janvier, était profondément infecté et son virus a servi à M. Laveran pour des passages) ; le singe X, mort spontanément, présentait à l'autopsie des lésions identiques à celles du Kala Azar humain avec un nombre colossal de parasites. Les observations de ces animaux seront publiées avec détail dans les *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*, fascicule de juillet 1909.



nous ne l'avons jamais trouvé. Devant ces résultats négatifs, nous avons eu l'idée d'opérer sur une plus grande quantité de sang et de séparer les globules blancs, porteurs ordinaires des corps de Leishman, du plasma et des hématies, de façon à multiplier les chances de rencontrer sur la lame un certain nombre de parasites. Après plusieurs essais, nous nous sommes arrêtés à la technique suivante :

Dans un tube d'un diamètre de 5 à 7 millimètres, nous déposons quelques gouttes d'une solution de citrate de soude à 10 0/0 et nous y recueillons le sang à examiner (1 à 2 c. c.). La proportion est un quart de la solution de citrate pour trois quarts de sang. On centrifuge ensuite et, lorsque les globules sont bien séparés du plasma citraté, on recueille avec un tube capillaire la couche blanchâtre qui se trouve à la surface du dépôt constitué par les globules rouges. Cette couche contient la plus grande partie des leucocytes avec les hématoblastes. On ferme le tube à une extrémité et on centrifuge à nouveau. Il se fait encore un léger dépôt rougeâtre d'hématies que surmonte en le séparant du plasma une petite colonne opalescente. On coupe au couteau à verre le tube à ce niveau et on fait les préparations avec cette couche blanchâtre. Elle se montre constituée presqu'uniquement par les globules blancs et les hématoblastes. C'est là que l'on trouve, dans les cas positifs, les parasites. Même dans ces cas, leur recherche est souvent ardue. Nous les avons rencontrés tantôt dans l'intérieur des globules blancs mononucléaires, leurs hôtes normaux, tantôt libres, isolés ou groupés en amas. Ils sont dans ce cas parfois de taille réduite, ne mesurant guère plus du tiers de leurs dimensions normales, d'ailleurs facilement reconnaissables à la présence de leurs deux masses chromatiques.

Nous les avons recherchés dans le sang de la circulation générale de quatre animaux reconnus infectés par d'autres procédés : trois chiens, un singe.

Chez le singe (singe III), *nos examens ont été constamment négatifs* (53e et 75e jours); à l'autopsie même, malgré la gravité de l'infection, le sang du cœur ne nous a montré aucun parasite.

Chez deux chiens sur trois, six examens (deux par chien) *nous ont donné trois fois la présence de corps de Leishman* : chien III, résultat positif au 51e jour de l'infection, négatif au 58e jour; chien VI, résultats positifs aux deux examens (51e et 56e jours); chien II, résultats négatifs au contraire (15e et 58e jours). Il ne nous a pas semblé qu'il existât un rapport entre la présence des parasites dans le sang et les oscillations de la courbe thermique.

Les corps de Leishman peuvent donc se rencontrer dans le sang de la circulation générale; il est possible que leur présence y soit constante, mais leur nombre y est si minime que même en opérant sur une quantité de sang appréciable, ainsi que nous l'avons fait, et en prolongeant la durée de l'examen des préparations jusqu'à fatigue oculaire notable, les chances de les rencontrer sont encore douteuses.

Le procédé ne vaut donc rien en pratique pour le diagnostic de l'infection chez l'animal inoculé. Nous avons vu plus haut qu'employé une seule fois chez l'enfant, ce procédé ne nous avait donné qu'un résultat négatif.

2° Recherche du parasite par la ponction du foie. — La ponction de la rate qui constitue une méthode de diagnostic d'un emploi si aisé et d'un résultat si sûr chez l'enfant, ne saurait être utilisée sur l'animal, puisque cet organe impossible à déceler par la palpation chez le chien ne peut être touché à coup sûr par l'aiguille chez le singe, même lorsqu'une hypertrophie notable permet de la reconnaître à la main.

Nous avons donc dû nous abstenir chez nos animaux d'expérience de chercher de ce côté et nous adresser au foie, si facile à reconnaître et si peu dangereux à ponctionner.

Nous rappellerons que cette méthode, employée chez quatre enfants, nous avait donné dans les quatre cas un résultatpositif. Nous l'avons utilisée sur 15 animaux. Voici les résultats obtenus :

1° *Singes.* — *Singe V*, ponction au 134e jour de l'infection, résultat positif.
Singe VI, au 72e jour, résultat positif.
Singe VII, au 77e jour, positif.
Singe VIII, au 77e jour, positif.
Singe IX (virus II), au 56e jour, positif.
2° *Chiens.* — *Chien VI* aux 212e, 264e et 319e jours, résultats positifs.
Chien VIII, au 200e jour, résultat positif.
Chien IX, aux 198e et 250e jours, résultat positif.
Chien XVI, aux 115e, 170e et 173e jours, résultat négatif.
Chien XVIII. anx 135e et 188e jours, résultat positif.

Chien XIX, au 134e jour, résultat positif.
Chien XX, aux 84e et 140e jours, résultat positif.
Chien XXI, au 97e jour, résultat positif.
Chien XXII, aux 94e et 148e jours, résultat positif.
Chien XXIII, au 13e jour, résultat positif.

Soit au total, 23 ponctions hépatiques pratiquées sur 15 animaux d'expérience; chez un seul (chien XVI) la recherche faite à trois reprises a donné un résultat négatif. Cet animal était pourtant infecté ainsi que l'a démontré son autopsie pratiquée le 216e jour; mais les corps de Leishman, assez nombreux dans la rate et la moelle des os, étaient exceptionnels dans le foie.

De ces constatations, il résulte que, sans être un moyen infaillible de diagnostic, la ponction hépatique est une méthode excellente pour reconnaître et suivre l'infection expérimentale chez le chien et chez le singe.

C'est également la seule que nous possédions actuellement, car la recherche du parasite dans le sang est, nous l'avons vu, tout à fait infidèle et les deux autres méthodes dont nous allons parler ne nous ont donné jusqu'à présent que des résultats négatifs (1).

3° Recherche du parasite dans la moelle osseuse. — Les corps de Leishman se rencontrent en grande abondance dans la moelle osseuse des enfants atteints de Kala Azar, nous savons qu'il en est de même chez les animaux infectés expérimentalement. Il serait extrêmement dangereux de pratiquer sur eux, pour le diagnostic, la trépanation d'un os long; nous avons pensé que l'amputation de la queue, procédé relativement inoffensif, pourrait peut-être nous donner des résultats. Pratiquée à titre d'essai sur le cadavre de deux animaux infectés (chien et singe), cette méthode ne nous a montré aucun parasite.

4° Sérodiagnostic. — Nous avons traité par le sérum d'animaux infectés des cultures de *Leishmania infantum* sans observer aucun phénomène anormal (arrêt des mouvements, agglutination ou dissolution). Ces expériences sont cependant actuellement encore trop peu nombreuses pour que nous puissions en tirer une conclusion définitive. Il y aurait également à rechercher avec le sérum de nos animaux la réaction de Bordet-Gengou.

En résumé, nos recherches nous ont fait connaître un unique

(1) Depuis la date de la rédaction de cet article nous avons employé plus d'une vingtaine de fois à nouveau la ponction hépatique chez nos animaux d'expérience; les résultats ont été constants en cas d'infection positive.

mais excellent moyen de diagnostic de l'infection chez l'animal vivant, la ponction hépatique.

REPRODUCTION EXPERIMENTALE DU KALA INFANTILE CHEZ LE CHIEN

Le chien est l'animal réactif. Nous verrons plus loin que cette donnée capitale trouve son explication dans ce fait que le Kala Azar de Tunisie est une infection naturelle du chien transmissible à l'enfant.

Avec des produits venant de l'enfant, de singes ou d'autres chiens, nous avons inoculé 19 chiens; tous, sauf une seule exception (chien VII sacrifié à une date assez précoce),ont été infectés. Nous avons autant que possible choisi de jeunes chiens, pensant éviter ainsi les animaux qui auraient pu présenter antérieurement une infection spontanée, laquelle laisse peut-être (nous n'en savons encore rien) une immunité consécutive à son atteinte.

Le matériel de l'inoculation a été emprunté dans tous les cas à la rate, parfois nous y avons mélangé de la moelle osseuse et exceptionnellement du tissu hépatique. Une bonne partie de nos animaux d'expérience a été inoculée dans le foie; l'inoculation intrahépatique paraît être en effet la plus sévère. La dose de virus injectée a varié de 2 à 4 c. c. d'une émulsion assez épaisse.

1° Symptomatologie du kala azar expérimental chez le chien. — Sur un total de 19 chiens inoculés avec notre virus I (1), deux seulement sont morts spontanément (chiens II et XX), aux 171e et 175e jours de l'infection, 6 ont été sacrifiés à des dates et pour des raisons diverses; 11 sont encore vivants.

Sur ces 11 derniers animaux, un (chien VI) est actuellement à la fin de son 11e mois d'infection, les autres sont inoculés depuis 7 mois (chiens VIII et IX) 6 mois (XVIII et XIX), et 1 mois (XXIII à XXVI). (2)

Tous ces animaux sont infectés.

L'évolution du Kala Azar expérimental du chien est en général silencieuse. Aucun symptôme ordinairement ne vient attirer l'attention de l'observateur. L'animal garde sa gaîté, son appétit;

(1) Quatre chiens ont été inoculés avec le virus II.
(2) Lire pour l'histoire de ces chiens depuis la date de rédaction de cet article, la note insérée six pages plus haut.

il ne présente nul trouble de la motilité ou de la sensibilité; rien du côté des yeux; il engraisse régulièrement. Nous avons fait prendre régulièrement deux fois par jour la température de nos animaux d'expérience. Certains n'ont pas présenté la moindre élévation thermique et parmi ceux qui ont fait de la fièvre, quelques-uns ont été reconnus atteints de piroplasmose canine (exemple : les chiens XV et XVII sacrifiés pour cette raison d'une façon précoce). Il semble cependant que *le Kala Azar expérimental du chien s'accompagne généralement d'élévations passagères de la température.* Ces élévations procèdent par périodes de quelques jours de durée, alternant avec des périodes plus longues d'apyrexie. C'est, en général au début, peu de jours après l'inoculation que la température s'élève; souvent, après une courte phase fébrile, il y a retour définitif à la normale; dans d'autres cas, on note des rechutes. Jamais la fièvre n'est élevée et jamais elle ne se traduit par un autre signe que la constatation thermométrique.

Bien que silencieuse, *l'infection semble débuter dès les premiers jours* qui suivent l'inoculation, c'est ainsi que des recherches effectuées à une date précoce ont permis de déceler la présence de parasites dans le foie dès les 12e et 13e jours de l'inoculation (chiens XV et XXIII); il semble qu'il y ait un premier stade pendant lequel la plupart des parasites inoculés sont détruits, puis qu'à ce stade fasse suite une phase de multiplication qui semble plus active d'abord dans le tissu hépatique; aux 51e et 56e jours, nous avons déjà trouvé des corps de Leishman en circulation dans le sang (chiens III et VI). Les deux chiens qui ont succombé spontanément ont présenté l'un (no II) une paralysie progressive assez analogue dans sa symptomatologie à la rage mue, le second (no XX) un amaigrissement subit et rapide avec hypothermie. Nous ne pouvons affirmer encore que le Kala Azar expérimental se termine chez le chien par la guérison. L'animal le plus ancien que nous possédons a été inoculé il y a 11 mois et il présente toujours des corps de Leishman nombreux, décelables facilement par la ponction du foie. Son état général est parfait. Chez lui l'infection n'a pas cessé de revêtir une bénignité absolue, c'est à peine si l'on a noté de temps en temps des périodes fébriles de peu de durée. Cependant il n'est pas guéri et rien par conséquent ne nous permet d'affirmer que pour généralement bénin qu'il soit chez le chien, le Kala Azar expérimental puisse se terminer par la guérison (1).

Nous donnons plus loin le résumé de l'observation de nos chiens d'expérience avec quelques exemples de courbes thermiques.

2o Lésions du kala azar expérimental du chien. — Les lésions chez les animaux sacrifiés pendant l'évolution de la maladie sont à peu près nulles. *La rate présente son aspect, sa couleur, sa consistance normales; seules ses dimensions sont un peu plus grandes*, mais *l'hypertrophie reste toujours modérée.* Le foie est normal. *La moelle osseuse est rose ou rouge.*

Chez un des animaux qui ont succombé spontanément (chien XX) et dont l'infection était extrêmement intense, nous avons noté une hypertrophie un peu plus notable de la rate, la présence de zones hémorrhagiques assez analogues à des infractus dans les poumons, un épanchement sérofibrineux léger dans les cavités péritonéale, pleurale et péricardiaque et surtout un *état particulier du sang.* Au niveau des incisions nécessitées par l'autopsie, le sang coule abondamment bien que l'animal soit mort depuis 2 heures, et sur place le sérum se sépare rapidement du caillot, formant une nappe liquide qui infiltre les tissus et ne tarde pas à se prendre en gelée. Le sang du cœur présente une altération analogue et les débris de rate, après que nous les avons broyés dans un verre stérile pour pratiquer les inoculations, laissent transsuder un liquide identique qui bientôt se prend en masse (2). Cet animal est le seul de nos chiens qui ait réellement succombé à l'infection.

3o Localisations du parasite chez le chien infecté. — Au nombre près des parasites, lequel est extrêmement variable suivant l'âge ou le degré de l'infection, la distribution des corps de Leishman chez nos animaux d'expérience, sacrifiés ou morts spontanément, s'est montrée sensiblement la même. Elle est d'ailleurs analogue à celle que nous avons remarquée chez l'enfant. La morphologie des parasites ne présente rien de spécial; ceux-ci se montrent tantôt isolés, tantôt contenus dans des cellules mononucléaires qui peuvent en contenir jusqu'à 50 ou 80

(1) Au 14e mois, cet animal est encore infecté.
(2) Même constatation a été faite depuis sur le cadavre du chien XXII sacrifié à l'Institut Pasteur de Paris.

ou dans leurs débris (gangues). Jamais on n'en rencontre dans les globules rouges du sang.

FROTTIS. — *Rate.* — La rate est toujours l'organe le plus parasité. Chez le chien XX, le nombre des corps de Leishman était tel que l'aspect des préparations donnait l'impression d'une véritable septicémie (voir fig. 3). Chez cet animal, et chez lui seulement, *nous avons noté la présence de parasites dans des polynucléaires véritables.* Cet aspect, dans ce cas même, est exceptionnel; les corps de Leishman inclus dans ces cellules y sont toujours très peu nombreux et généralement en voie de digestion intra-cellulaire.

Moelle osseuse. — C'est avec la rate l'organe le plus atteint. Même localisation des parasites que dans la rate. Chez le chien XX, présence exceptionnelle de corps de Leishman dans des polynucléaires.

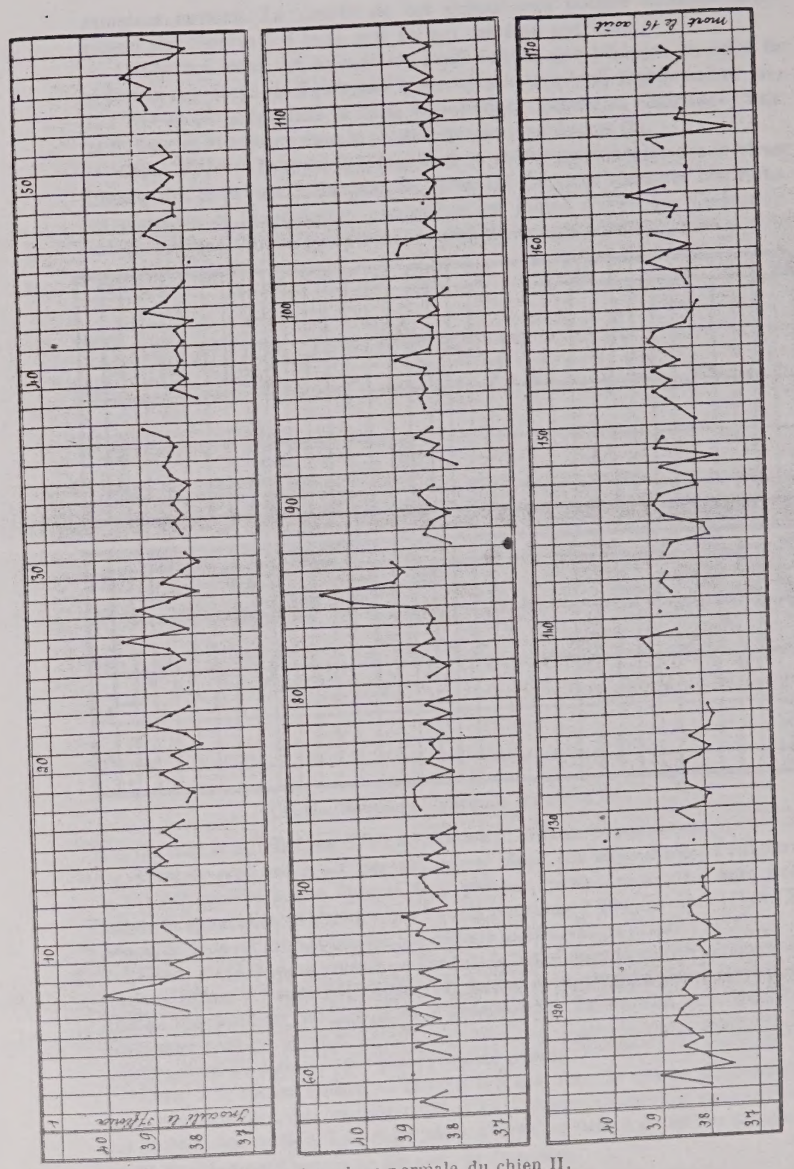
Foie. — Généralement très infecté, quelquefois au même degré que la rate, quelquefois au contraire à un degré infiniment moindre. Il est à noter que la plupart de nos animaux d'expérience avaient été inoculés en plein foie. Chez le chien XX seul, présence exceptionnelle de parasites dans des polynucléaires et aussi, mais plus souvent, *dans des cellules hépatiques.* Le nombre des corps de Leishman qu'elles englobent peut atteindre 12 à 20 pl. XIV (fig. 4.)

Rein, poumon, ganglions mésentériques. — Parasites exceptionnels, généralement inclus dans des mononucléaires.

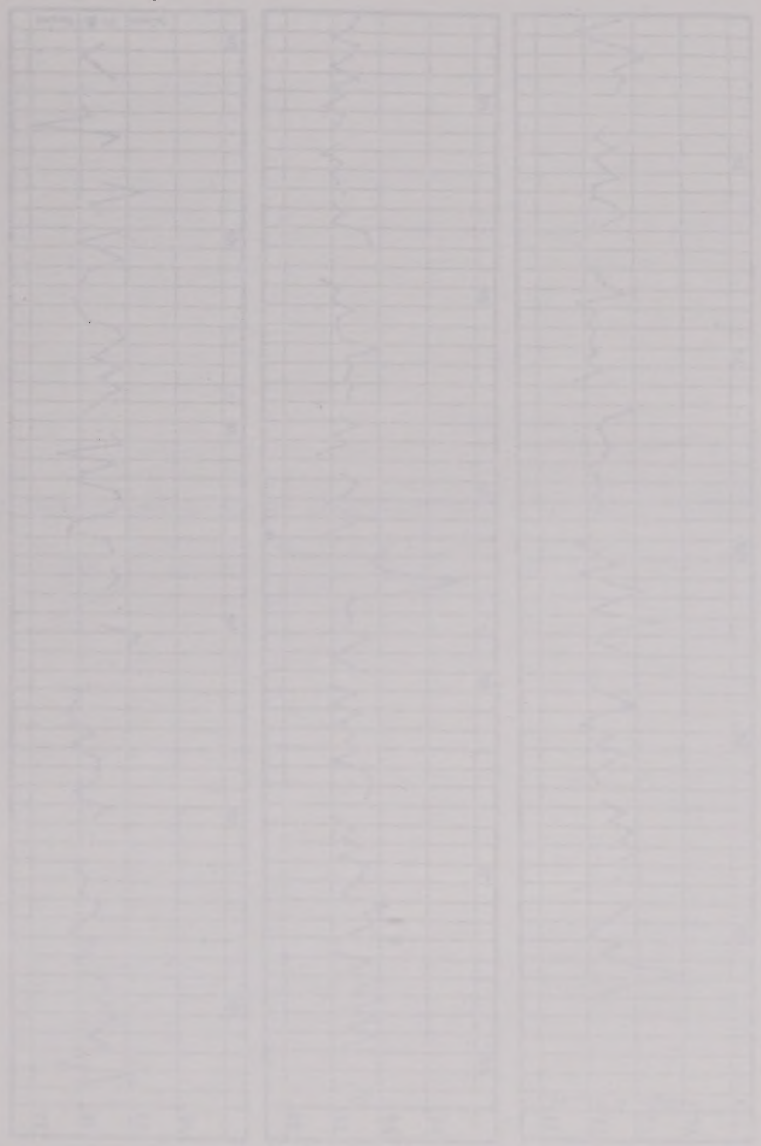
Capsule surrénale. — Absence de parasites.

COUPES. — L'étude des coupes confirme ces données et montre que chez le chien comme chez l'enfant, les cellules parasitées appartiennent en majorité à l'endothélium vasculaire. L'examen d'une préparation du foie est à ce point de vue particulièrement instructive.

4° Résumé des observations des chiens infectés dans nos expériences. — Pour compléter cette description un peu schématique du Kala Azar expérimental du chien, nous croyons utile de résumer brièvement ici les observations de nos animaux d'expérience en donnant les courbes thermiques de certains d'entre eux.



Courbe thermique normale du chien II.



Chien I. — Inoculé dans le foie le 21 septembre 1907 avec une goutte de sang provenant d'une ponction de la rate pratiquée chez l'enfant I, puis le 9 décembre dans le foie et la cavité péritonéale avec le produit de broyage d'un fragment de la rate de ce même enfant (autopsie). Aucun symptôme; la température n'a pas été prise régulièrement.

L'animal très gras est sacrifié le 27 février (80e jour de la seconde inoculation, la seule valable sans doute). Parasites nombreux dans la rate et la moelle des os, rares dans le foie, exceptionnels ou absents dans les autres organes.

Culture de la pulpe splénique en milieu Novy Mac Neal positive, repiquable.

Chien II. — Inoculé le 27 février 1908 dans le foie et la cavité péritonéale avec le virus (mélange de rate et moelle osseuse) du chien I; poids 2,400 grammes. Aucun symptôme, courbe thermique normale (voir ci-dessus) une seule élévation thermique isolée sans intérêt ni explication au 85e jour.

Vers le 10 août, l'animal ne peut plus se tenir debout, il reste couché, paraît triste, maigrit. Le train postérieur se paralyse, le chien refuse de boire et de manger; il bave abondamment. Aucun phénomène d'excitation; pas d'élévation ou d'abaissement de température. Bientôt, par suite des progrès de la paralysie, l'animal ne remue plus que la tête. Il meurt le 16 aout, 171e jour après l'inoculation. Poids : 3,050 grammes.

Autopsie. — *Foie*, 140 grammes, normal. *Rate*, 26 grammes, caractères normaux; dimensions 14,5 sur 3 à 5, *Moelle osseuse* rose. *Reins* très pâles, rétractés.

Parasites très nombreux dans la rate, la moelle, le foie (il y en a peut-être dans certaines cellules hépatiques) assez abondants dans les ganglions mésentériques; exceptionnels dans les poumons.

Pendant la vie, la présence de corps de Leishman n'avait pu être constatée dans le sang centrifugé aux 51e et 58e jours de l'inoculation.

Chien III.—Inoculé le même jour et avec le même produit que le chien II. Quelques élévations thermiques au début, coincidant avec de la diarrhée; (voir la courbe ci-dessous reproduite) la température reste généralement supérieure à la normale avec tendance à osciller par périodes; aucun autre symptôme. La présence de corps de Leishman a été constatée par recherche dans le sang citraté et centrifugé au 51e jour de l'inoculation, non au 58e.

L'animal est sacrifié le 5 mai (69e jour).

Autopsie. Animal gras, poids 4,325. *Rate* 20 grammes, foie 230, ayant leurs aspects normaux, *moelle osseuse* rouge.

Infection peu intense, prédominant dans la moelle osseuse; les parasites sont exceptionnels dans le foie.

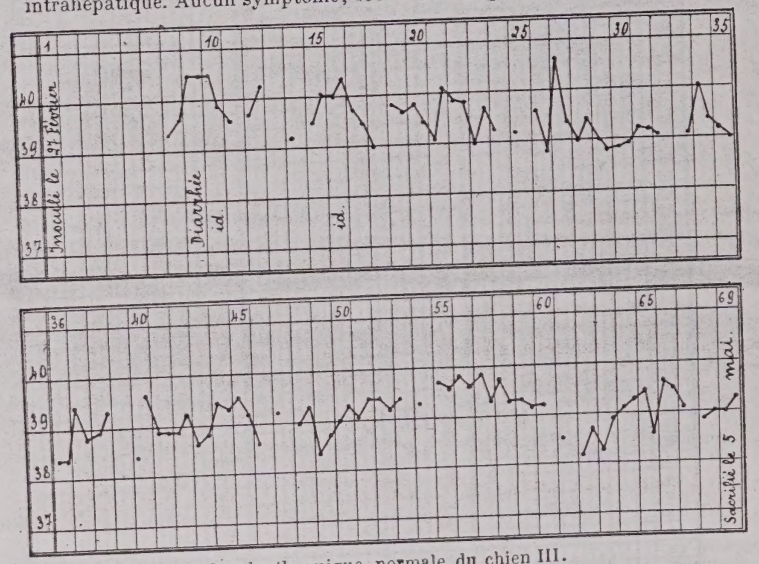
Chien VI. — Encore vivant. Inoculé le même jour et avec les mêmes produits que les chiens II et III.

Aucun symptôme pendant les onze mois d'observation, sauf du côté de la température qui a montré quelques élévations pendant les premières semaines, pour revenir à la normale et s'y maintenir jusqu'en novembre-décembre où l'on remarque une légère recrudescence qui cède après trois

semaines environ. La courbe de cet animal sera publiée ultérieurement quand son observation aura pris fin par mort ou guérison.

L'infection chez cet animal est aussi tenace que bénigne; en effet la présence des corps de Leishman a été constatée à cinq reprises chez lui; aux 51e et 56e jours dans le sang périphérique citraté et centrifugé; aux 212e, 264e et 319e jours dans le produit de ponction du foie (1).

Chien VII. — Inoculé le 5 mai dans la cavité péritonéale avec le virus (moelle des os et rate mélangées) du chien III. Ce virus n'est pas très riche en parasites et l'inoculation péritonéale est moins sévère que l'injection intrahépatique. Aucun symptôme; courbe thermique normale.



Courbe thermique normale du chien III.

Sacrifié le 8 juillet, ce chien ne montre ni lésions, ni parasites.

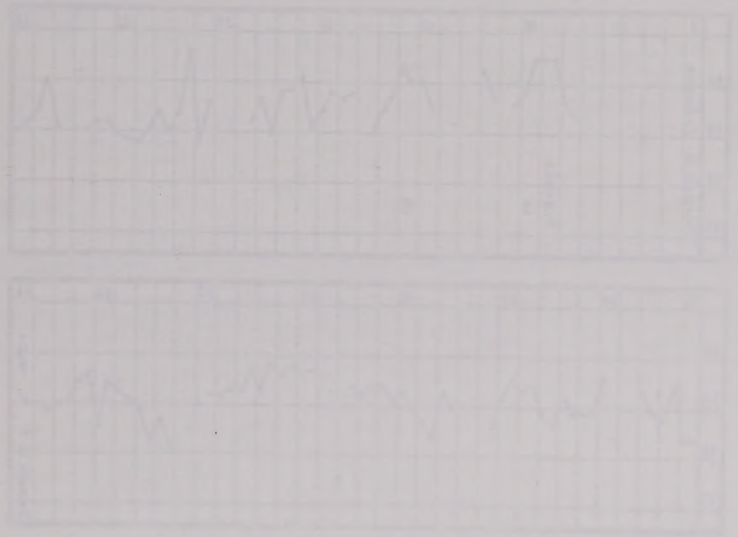
C'est le seul qui n'ait pas été infecté dans nos expériences. Peut-être a-t-il été sacrifié à une époque trop précoce; peut-être avait-il subi une atteinte spontanée antérieure qui l'avait immunisé? Les chiens VIII et IX inoculés dans les mêmes conditions ont été facilement infectés.

Chien VIII, encore vivant. — Inoculé le 5 mai dans la cavité péritonéale avec le même virus que le chien VII. Aucun symptôme, aucune élévation thermique pendant les six mois d'observation. La courbe sera publiée ultérieurement.

Ponction du foie au 200e jour, résultat positif.

Chien IX, encore vivant. — Inoculé le 5 mai dans la cavité péritonéale avec le même virus que les chiens VII et VIII. Aucun symptôme pendant les six mois d'observation. La température s'élève au-dessus de 39° en novem-

(1) Et récemment encore au 14e mois de l'infection.



bre et tend à s'y maintenir avec quelques oscillations. La courbe sera publiée ultérieurement.

Ponctions du foie aux 198e et 250e jours, résultats positifs.

Chien XV. — Inoculé dans la cavité péritonéale le 3 juin avec le virus (moelle osseuse et rate) du singe III (voir plus loin). Ce virus est riche en parasites. La température de ce chien montre une élévation rapide à 40° dès le 9e jour; la fièvre persiste les jours suivants pour atteindre 40°,5 les 10 et 15 juin. Un examen du sang pratiqué à cette dernière date montre la présence du *piroplasma canis*. L'animal est sacrifié le 15 juin (12e jour de l'infection). Organes normaux. Rares corps de Leishman dans le foie, leur présence est exceptionnelle dans la moelle des os, nous n'en avons pas vu dans la rate. Il existe par contre sur les frottis du foie de nombreuses formes qui semblent appartenir à des corps de Leishman en voie de dégénérescence. Cette observation est intéressante en ce qu'elle montre que dès le 12e jour après l'inoculation du virus, des parasites, très rares, peuvent être rencontrés. Le premier organe atteint dans le cas d'inoculation péritonéale paraît être le foie. Il semble qu'il y ait destruction (surtout dans cet organe) de la plupart des parasites inoculés et que ce soit par multiplication ultérieure des quelques infusoires qui ont résisté à la phagocytose que se fait ensuite l'infection.

Chien XVI. — Inoculé dans la cavité péritonéale le 3 juin avec le même virus que le chien XV. Aucun symptôme, aucune élévation thermique pendant les sept mois d'observation (comme pour tous les autres animaux, la température a été prise régulièrement deux fois par jour). Il nous paraît inutile de publier la courbe, absolument normale.

Trois ponctions du foie pratiquées aux 115e, 176e et 173e jours ont donné un résultat négatif. L'animal sacrifié le 5 janvier 1909 est gras, il pèse 6 kilos (il pesait 4kg,300 au 3 juin) rate 24 grammes, foie 212, ayant leurs aspects normaux, moelle osseuse rose.

Infection peu intense (1 à 2 corps de Leishman par champ) de la rate et de la moelle des os. Les parasites sont exceptionnels dans le foie, ce qui explique les insuccès des ponctions de cet organe pendant la vie.

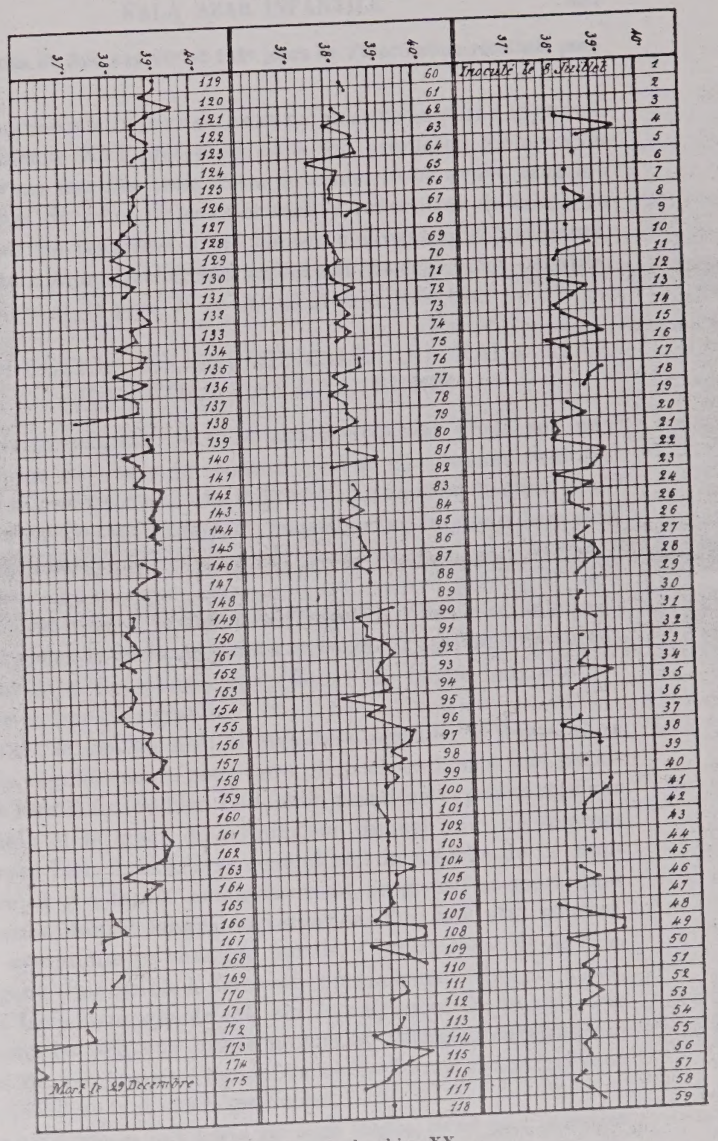
L'utérus de cette chienne contient *trois fœtus* à terme vivants, deux sont examinés de suite, un a vécu huit jours environ; aucun de leurs organes ne contient de parasites décelables au microscope; il n'a pas été fait de cultures.

Chien XVII. — Inoculé dans la cavité péritonéale le 5 mai avec le même virus que les chiens XV et XVI. Aucun symptôme, la température tend à s'élever vers le 20e jour, mais elle retombe rapidement à la normale.

Sacrifié le 8 juillet (35e jour); poids 1kg,200. Rate 45 grammes normale, moelle osseuse rose, infection légère. Quelques corps de Leishman dans ces deux organes; ils sont toujours inclus dans les mononucléaires; la cellule la plus parasitée en contient trois; parasites exceptionnels dans le foie.

Chien XVIII, encore vivant. — Inoculé dans le foie et dans la cavité péritonéale avec le virus (mélange de rate, foie et moelle osseuse) du singe V (voir plus loin). Ce virus est très riche en parasites.

Aucun symptôme, aucune élévation de température pendant les six mois d'observation.



Courbe du chien XX.

Ponctions du foie aux 135e et 188e jours, résultats positifs.

Chien XIX, encore vivant.—Inoculé en même temps, de la même manière et avec le même virus que le XVIII. Aucun symptôme; mais à partir du début de novembre, élévation de température presque journalière pouvant atteindre 40°. Au milieu de décembre, la fièvre diminue, mais elle présente une tendance régulière à dépasser la normale. Ponction du foie au 134e jour, résultats positifs [1].

Chien XX. — Inoculé le 8 juillet dans le foie et la cavité péritonéale avec le même virus que les chiens XVIII et XIX. L'état général est demeuré bon jusqu'au milieu d'octobre (90e jour); à partir de ce moment, le chien est devenu triste, restant perpétuellement couché sur sa litière, replié sur lui-même, sans répondre aux appels. En même temps, la température qui oscillait jusque-là autour de 38°,5 s'est élevée, dépassant généralement 39. Elle s'est maintenue ainsi entre 39° et 40° pendant environ un mois, puis il y a eu un retour à la température normale d'une durée de 15 jours, suivi de deux courtes périodes fébriles. A partir du 160e jour, la température baisse définitivement en même temps que l'état général s'aggrave, l'animal maigrit, ne s'alimente plus, demeure complètement immobile; il meurt enfin dans l'hypothermie le 29 décembre, 175e jour de l'inoculation. Nous reproduisons ci-dessous la courbe thermique. Cet animal est le seul qui ait manifestement succombé aux progrès de la maladie expérimentale.

Deux ponctions du foie, pratiquées aux 84e et 140e jours de l'inoculation avaient donné des résultats positifs.

Autopsie. — Poids 2,940 (au 8 juillet : 3kg,400), amaigrissement. Rate 37 grammes, hypertrophiée, consistance et couleur normales; foie 200 grammes congestionné; moelle osseuse rouge; poumons avec des zones hémorrhagiques simulant des infractus. État du sang décrit plus haut; épanchement sérofibrineux léger des cavités péritonéale, pleurale et péricardique.

Sur les frottis.—Rate: parasites en nombre inouï (comme dans une véritable septicémie), en majeure partie libres. On en trouve *exceptionnellement dans des polynucléaires.* Foie : corps de Leishman très nombreux, en général libres, on en trouve exceptionnellement dans des polynucléaires et *assez souvent dans des cellules hépatiques*, celles-ci peuvent contenir jusqu'à 12 à 20 parasites. Moelle osseuse : parasites très nombreux en majorité libres; on en trouve exceptionnellement dans des polynucléaires. Reins, poumons, capsule surrénale, sang du cœur : parasites rarissimes, toujours intracellulaires (mononucléaires).

Chien XXI, encore vivant. — Inoculé le 16 août dans la cavité péritonéale avec le virus (rate) du chien II, riche en parasites.

Aucun symptôme, aucune élévation de température pendant les cinq mois d'observation.

Ponction du foie au 97e jour de l'inoculation, résultat positif.

Chien XXII, encore vivant. Inoculé en même temps et avec le même virus que le XXI.

Aucun symptôme, température normale jusqu'au début de décembre; à partir de ce moment, fièvre légère, tendant à céder au début de janvier.

(1) Ce chien a été remis par nous en janvier à M. Laveran.

Ponctions du foie aux 96e et 148e jours de l'inoculation résultats positifs. [1]

5° Transmission intraplacentaire chez le chien infecté. — La chienne XVI présentait dans son utérus au moment où nous l'avons sacrifiée trois fœtus à terme. Nous avons examiné les organes de deux de ceux-ci sans y rencontrer de corps de Leishman. Le troisième a été conservé vivant quelques jours, les résultats de nos recherches sur lui ont été également négatifs.

La mère et le père de ce fœtus étaient infectés.

REPRODUCTION EXPÉRIMENTALE DU KALA AZAR INFANTILE CHEZ LE SINGE

Symptomatologie. — Nos expériences ont porté sur une seule espèce de singes le *macacus sinicus* [2] (bonnet chinois). Ce singe se montre d'une sensibilité voisine de celle du chien pour le virus du Kala Azar infantile; mais chez lui, *les symptômes sont plus manifestes.*

La *fièvre* ne manque jamais; elle est souvent précoce et permet ainsi de deviner le début de l'infection. Plus tard, elle procède par ondes de quelques jours à une ou deux semaines de durée, alternant avec des phases apyrétiques de même longueur ou de durée un peu plus grande.

Suivant le cas, ou bien la maladie s'aggrave, la fièvre alors s'installe régulièrement pour faire place cependant à une hypothermie terminale, ou bien l'infection prend un type subaigu sur l'évolution et le mode de terminaison duquel nous ne sommes pas encore bien fixés. L'état général suit la marche de la température; il y a tantôt amaigrissement progressif et mort dans le marasme, tantôt longue conservation d'un bon état général.

Un symptôme ne manque jamais, *l'hypertrophie de la rate.* Cet organe, impossible à percevoir normalement chez le singe, devient facilement *appréciable par la palpation.* On le sent très nettement comme une masse mobile et allongée, siégeant au-dessous du rein gauche, immobile et de forme caractéristique avec lequel il ne faut pas le confondre.

Nos expériences ont porté sur sept singes, dont cinq inoculés

(1) Le chien sacrifié à l'Institut Pasteur de Paris en janvier a montré une infection intense.

(2) Nous négligeons un singe *cynomolgus*, inoculé le 29 décembre, avec le virus du chien XX.

avec le virus I, le dernier avec le virus II. Un de ces singes est mort d'une infection étrangère, deux ont succombé au Kala Azar, deux ont été sacrifiés en pleine infection, deux sont encore vivants et infectés.

Nous donnerons plus loin l'observation résumée de ces divers animaux avec quelques courbes thermiques choisies parmi les plus caractéristiques.

La durée de l'infection chez le singe est très difficile à déterminer, nos singes actuellement vivants sont au 6e mois de l'inoculation, ceux qui sont morts de Kala Azar ont succombé après 2 mois 1 /2 à 3 mois. Il faut d'ailleurs toujours tenir compte dans l'appréciation de la durée d'une maladie expérimentale chez le singe, de la grande délicatesse de ces animaux, dont certains sont pris de dépérissement et meurent sans cause apparente, même dans les pays relativement favorables à leur vie comme l'Afrique Mineure.

Anatomie pathologique. — A l'autopsie des singes morts du Kala Azar ou sacrifiés en pleine infection, nous n'avons trouvé que deux lésions constantes, *l'hypertrophie de la rate* et la *coloration rouge de la moelle des os.*

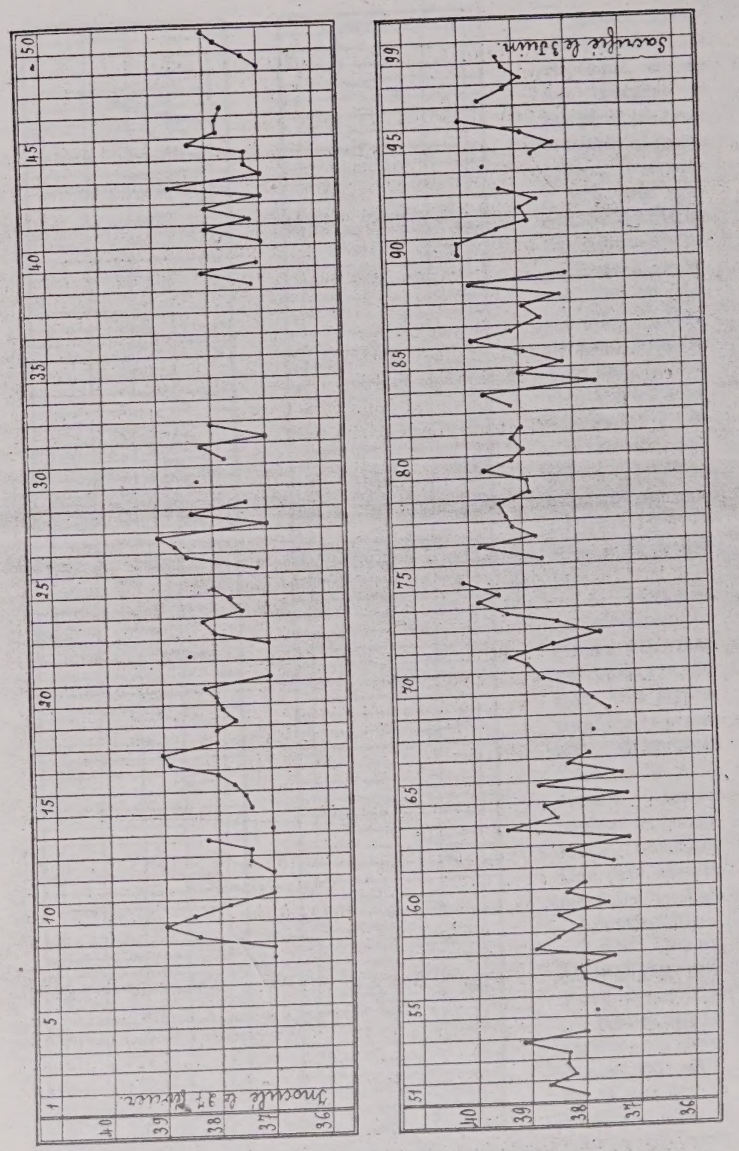
L'hypertrophie de la rate est considérable Nous notons en effet sur ces animaux les poids et dimensions suivantes : Singe III : poids 12 grammes, dimensions : 5,5×3,5×1,3. Singe V : poids 11 grammes, dimensions : 5,5×4×1,3. Singe VI : poids 8 grammes. Singe IX : poids 5 grammes. Ces deux derniers singes étaient de très petite taille. La rate pèse normalement 3 grammes chez un bonnet chinois de taille moyenne (1).

L'organe a conservé sa consistance normale, mais sa forme est modifiée, il est globuleux et comme tendu.

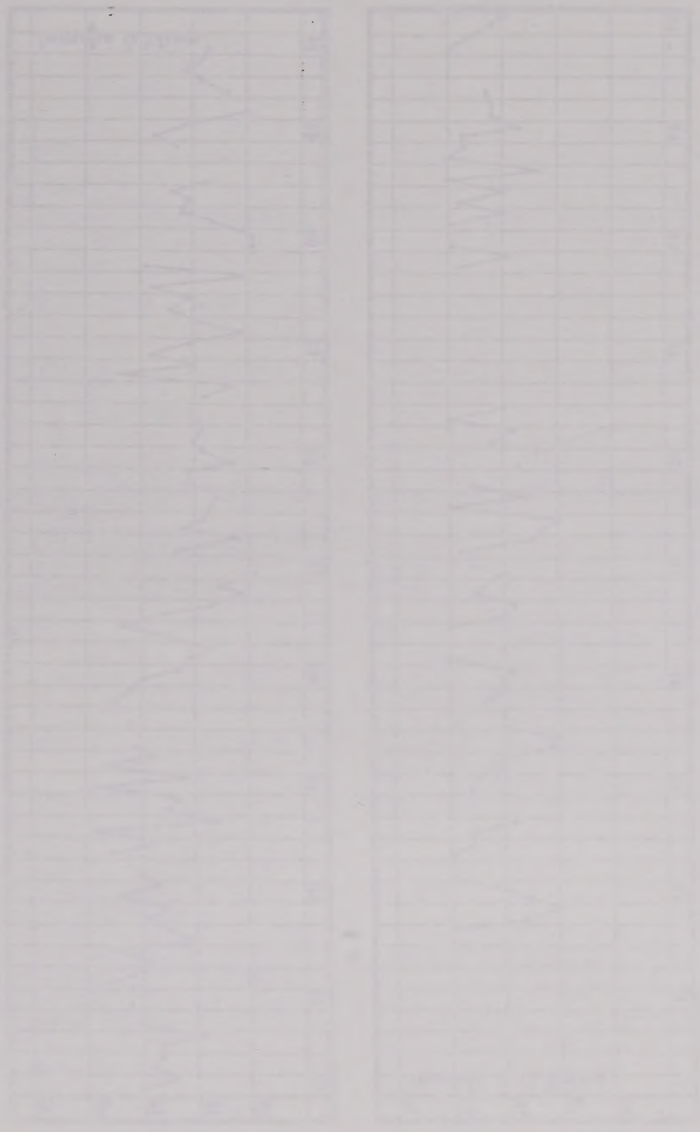
Rien à noter du côté du foie.

Localisations du parasite chez le singe. — *Ce sont les mêmes que chez le chien ou chez l'enfant.* — Les parasites sont plus ou moins nombreux, suivant l'âge et le degré d'infection. Nous croyons inutile de répéter ici une description déjà faite; on trouvera d'ailleurs dans le résumé des observations qui suivent les quelques détails intéressants pour chaque cas. Un seul fait nous paraît devoir être signalé, *la présence des corps de Leish-*

(1) Le singe X mort depuis la date de rédaction de cette article avait une *rate énorme pesant 25 grammes.*



Courbe du singe III.



man dans les cellules hépatiques, constatée chez les singes III et V, inoculés dans le foie. L'infection de ces cellules était moindre cependant que chez le chien XX. Chez un singe, nous avons trouvé quelques parasites dans des polynucléaires.

Sur les coupes des organes des singes : localisation habituelle des corps de Leishman dans les cellules endothéliales des vaisseaux (exemple type : les coupes du foie).

Résumé des observations des singes infectés.

Singe I. — Inoculé le 7 décembre dans le foie et la cavité péritonéale avec le virus (rate) de l'enfant I. Aucun symptôme jusqu'en janvier, époque où l'animal commence à maigrir. Aggravation au début de mars, diarrhée dysentériforme; hypothermie (la température n'avait pas été prise régulièrement avant). On sacrifie l'animal le 16 mars (99e jour de l'inoculation). Rate et foie ayant sensiblement leurs caractères normaux; moelle osseuse rouge; lésions œdémateuses de la partie terminale du gros intestin (dysenterie).

Infection modérée de la rate, du foie et de la moelle des os; absence de parasites dans les autres organes. L'animal est mort d'une infection secondaire, étrangère à la maladie inoculée.

Singe III. — Inoculé le 27 février dans le foie et la cavité péritonéale avec le virus du chien I. Sacrifié le 3 juin (99e jour) par chloroformisation.

Les symptômes observés à la suite de l'inoculation ont été d'abord nuls, puis, au bout d'un mois, l'animal a commencé à maigrir et la température qui oscillait entre 37° et 38°,5 avec de ces écarts subits qui sont fréquents chez les singes, a atteint et rapidement dépassé 39°. La phase fébrile de l'infection a débuté vers le 75e jour; elle a persisté jusqu'à la mort de l'animal. Le maximum atteint a été 40°,1. En même temps, l'amaigrissement s'est accentué et la rate est devenue perceptible à la palpation.

Nous donnons ci-dessus la courbe thermique de cet animal.

Le sang périphérique examiné après centrifugation aux 53e et 73e jours n'a montré la présence d'aucun parasite.

A l'*autopsie*, amaigrissement notable. Poids 1kg,635. Rate très hypertrophiée, dimensions 5,5×3,5 ×1,3; l'organe est comme tendu, sa consistance est ferme, sa couleur à la coupe et à la surface normale. Une rate supplémentaire. Foie 65 grammes normal. Moelle des os rouge. Rien ailleurs.

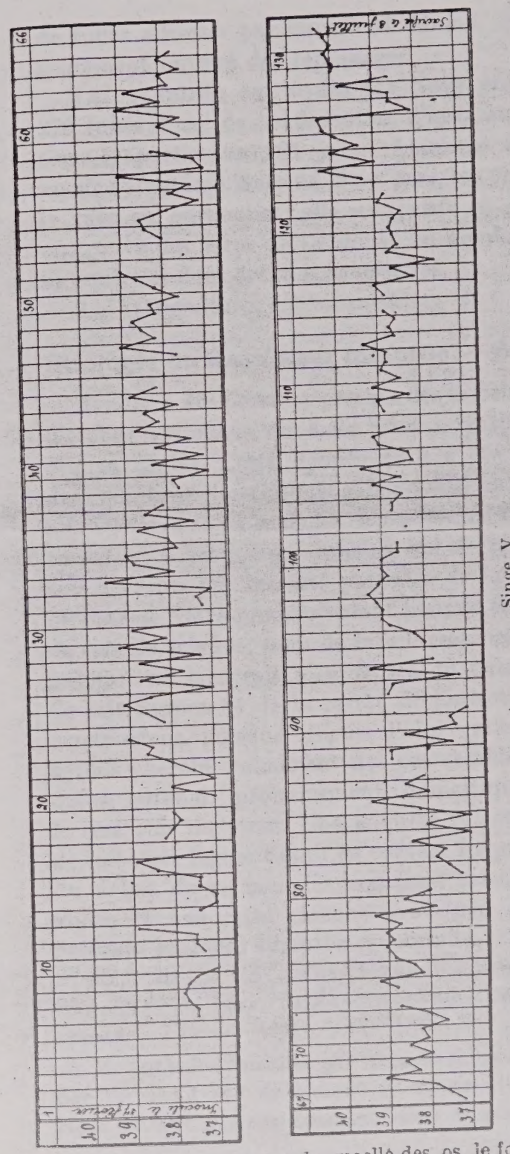
Très nombreux parasites dans la rate, la rate supplémentaire, la moelle des os et le foie où l'infection semble présenter son maximum d'intensité.

Rares corps de Leishman sur les frottis des autres organes examinés (reins, poumons, ganglions) et dans le sang du cœur citraté et centrifugé.

Présence rare des parasites dans les cellules hépatiques et une fois dans un polynucléaire.

Cultures sur milieu NNN positives.

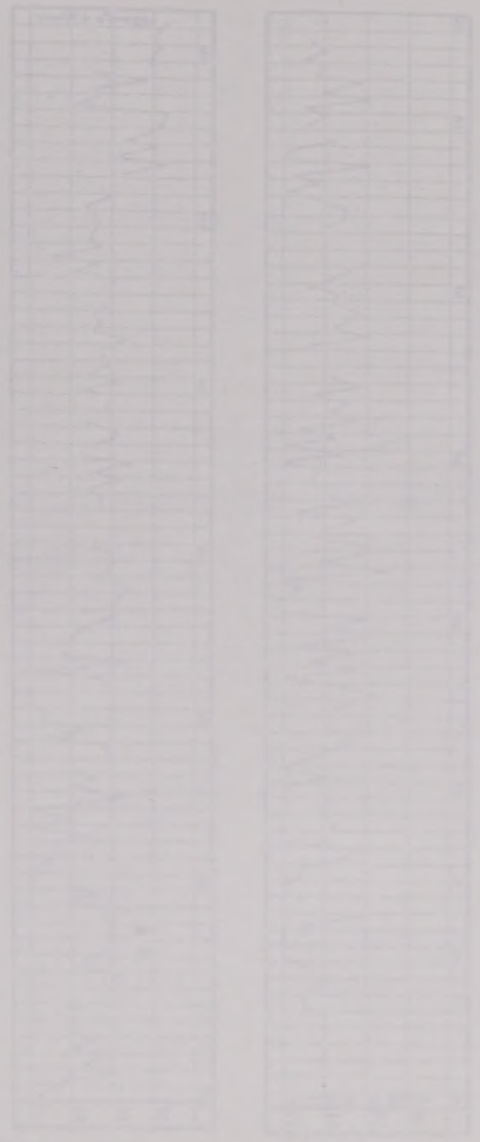
Singe V. — Inoculé le 27 février dans les mêmes conditions que le singe III. Sacrifié en pleine santé, le 8 juillet, 132e jour de l'inoculation.



Aucun symptôme pendant la vie, sauf en ce qui concerne la température (voir la courbe ci-jointe celle-ci, demeurée à peu près normale (quoique avec une tendance générale à avoisiner 39° au lieu d'osciller autour de 38°,5) jusqu'au 123e jour, a commencé alors à atteindre et à dépasser 40°; en même temps la rate est devenue nettement perceptible à la palpation.

A l'*autopsie*, amaigrissement nul ou peu marqué, poids 1kg,950. Rate très hypertrophiée 11 grammes, dimensions 5,5 × 4 × 1, 3, comme tendue couleur et consistance normales. Une rate supplémentaire. Foie hypertrophié, congestionné, poids 72 grammes. Moelle des os rouge

Mêmes constatations microscopiques (pl. XV, fig. 5) que chez le singe III pour la rate, la rate supplémentaire, la moelle des os, le foie (*présence très nette de parasites dans les cellules hépatiques*), les reins, poumons et ganglions. Le



sang citraté et centrifugé montre d'assez nombreux corps de Leishman dans les polynucléaires.

Singe VI. — Inoculé le 8 juillet dans la cavité péritonéale avec le virus (rate) du singe V. Aucun symptôme jusqu'au début d'octobre, sauf des élévations fréquentes de température à partir du mois d'août; nous ne croyons pas utile de reproduire ici la courbe. La rate devient appréciable à la palpation à la fin de septembre. Diarrhée et amaigrissement en octobre, mort le 19 de ce mois (103e jour de l'inoculation). Une ponction du foie pratiquée au 72e jour de l'inoculation a donné un résultat positif.

A l'*autopsie*, poids 1kg,550 (au 8 juillet le poids était de 2kg,200). Lésions d'entérite aiguë, cause de la mort. Rate ferme, 8 grammes; foie 63 grammes; moelle osseuse très rouge.

Sur les frottis, infection peu prononcée de la rate, du foie et de la moelle des os.

Singe VII, encore vivant. — Inoculé le 8 juillet dans les mêmes conditions que le singe VI. Aucun symptôme, pas d'amaigrissement, rate appréciable depuis le mois de sepembre. La température, normale jusqu'au 15 septembre, présente à partir de ce moment jusqu'en janvier des poussées fébriles fréquentes, mais peu élevées, de quelques jours de durée et séparées par des périodes d'aphyxie. La courbe thermique sera publiée ultérieurement.

Ponction hépatique au 77e jour, résultat positif.

Singe VIII, encore vivant. — Inoculé en même temps que le singe VII. Observation complètement identique. Ponction hépatique positive également au 77e jour.

Singe IX. — Inoculé le 20 octobre avec le virus II (cas Porot, rate). Élévations de température par poussées à partir du début de novembre (la courbe sera publiée ultérieurement). Amaigrissement et hypothermie au début de janvier. Sacrifié moribond le 7 janvier (79e jour de l'inoculation.

A l'*autopsie*, amaigrissement, poids 1kg,090. Rate tendue, de consistance un peu diminuée, poids 5 grammes; foie 50 grammes, moelle des os rouge, Corps de Leishman assez abondants dans le foie, la rate, la moelle; rarissimes dans les reins, poumons et ganglions mésentériques (1).

II. — INOCULATIONS DES CULTURES

Nos tentatives d'infection des animaux sensibles au virus avec des cultures ont été négatives (4 chiens dont deux nouveaunés et deux singes). Nous ne croyons pas utile de les rapporter en détail ici. Les quantités inoculées par nous étaient toujours des plus faibles (une culture, c'est-à-dire 1 c. c. au maximum).

Plus heureux que nous, Novy est parvenu à réaliser l'infection chez un chien en partant des cultures. Celles-ci provenaient

(1) Le singe X (*cynomolgus*), mort le 18 mars, a présenté à l'autopsie le tableau exact du Kala Azar de l'enfant.

de tubes adressés par nous à M. Mesnil, qui lui en avait obligeamment envoyé des repiquages.

Les quantités employées par Novy ont été considérables : 270 tubes d'eau de condensation d'agar au sang en 15 inoculations, réparties en 161 jours. L'animal inoculé n'a présenté aucun symptôme. Sacrifié, il est gras, ses organes sont normaux, la rate en particulier; elle est petite et ferme; mais partout on trouve des corps de Leishman en nombre considérable, libres ou contenus dans des mononucléaires.

Les retrocultures ont été positives (2).

Étiologie du Kala Azar infantile. — Son origine canine.

Il nous a été possible, presque dès le début de nos recherches, d'établir l'étiologie du Kala Azar infantile et de prouver son origine canine. Cette donnée nous a été suggérée par l'étude des conditions dans lesquelles le premier enfant examiné par nous avait contracté sa maladie. En présence d'une infection à protozoaires, il est logique aujourd'hui de penser à une transmission possible par insectes parasites de la peau, de l'habitation ou autres. Notre premier enfant malade était un enfant français de famille éclairée, tenu de façon irréprochable; la maison qu'il habitait ne montrait ni punaises, ni parasites d'aucune sorte. Ce fait rapproché de la rareté de l'infection, donnée que nous connaissions puisque, depuis l'observation de Cathoire, nous avions cherché vainement des cas semblables, nous fit penser qu'un animal, probablement domestique, devait constituer le réservoir du virus. Une enquête fut établie et nous montra de suite que l'enfant était en contact fréquent au moment même du début de sa maladie avec une chienne appartenant à un voisin et que cette chienne avait peu de temps auparavant présenté quelques symptômes morbides; amaigrissement, fièvre, troubles de la vue, ceux-ci ayant amené une cécité presque complète. De plus, vers cette même époque, la chienne avait avorté.

M. Cathoire consulté par nous se rappela que l'enfant observé par lui avait été également en contact avec plusieurs chiens. Nous basant sur ces données, nous avons d'emblée tenté l'ino-

(1) F. G. Novy, *Journal of American Association*, 14 octobre 1908, vol. LI, p. 1423-1424.

culation au chien en même temps qu'au singe du virus de notre premier malade. Le résultat a été, comme on l'a vu, positif. Cette sensibilité du chien, animal si éloigné de l'homme, rendait tout à fait plausible notre hypothèse de l'origine canine du Kala Azar infantile.

Pour en apporter la démonstration, nous avons établi deux enquêtes parallèles, l'une du côté des chiens de l'entourage des malades, l'autre sur les chiens de la fourrière de Tunis.

I. — La première enquête nous a prouvé que d'une façon constante des chiens et souvent des chiens malades (plusieurs avaient succombé) s'étaient trouvé en contact avec les enfants au moment où ceux-ci avaient présenté les premiers symptômes de leur infection. Plusieurs de ces animaux nous furent conduits; tous étaient au moment de notre examen en état de parfaite santé apparent; nous avons pu en sacrifier quelques-uns. Jamais, jusqu'à présent nous n'en avons rencontré d'infectés. Il est juste d'ajouter que notre examen fut toujours très tardif, car lorsqu'il nous était permis de le pratiquer, le début de l'infection remontait chez l'enfant à plusieurs mois, parfois un an ou plus et que dans l'hypothèse d'un Kala Azar antérieur du chien, la maladie avait les plus grandes chances d'être guérie. Il n'est d'ailleurs nullement prouvé que les chiens qui nous ont été remis fussent, dans tous les cas, ceux qui s'étaient trouvés en contact avec les enfants.

II. — *Notre enquête du côté des chiens de la fourrière de Tunis, nous a donné* au contraire *des résultats tout à fait démonstratifs :*

Pendant les mois de mars, avril et mai 1908, 222 cadavres de chiens provenant de la fourrière de Tunis ont été examinés par nous; ils se répartissent ainsi.

15 mars	14 chiens	15 avril	21 —
12 —	15 —	30 —	19 —
29 —	11 —	7 mai	20 —
6 —	18 —	14 —	22 —
2 avril	21 —	21 —	16 —
9 —	13 —	28 —	19 —

Nos recherches ont été faites dans les conditions suivantes : les chiens, asphyxiés le soir, nous étaient apportés le lendemain matin. Nous prélevions aussitôt sur leurs cadavres la rate et un segment d'un fémur. Des frottis pratiqués avec la pulpe du premier organe et la moelle osseuse du second étaient après fixation colorés au Giemsa.

Sur un total de 222 *chiens, quatre ont été reconnus atteints de Kala Azar spontané* (soit une proportion de 1,8 0/0 d'infectés à Tunis au printemps 1908). Nous avons interrompu nos recherches au début de juin. Le mauvais état dans lequel les cadavres des animaux nous parvenaient par suite de la grande chaleur nous y a obligés. Nous y aurions été sans doute obligés également, déterminés par la fatigue extrême que cause à la longue la recherche de parasites aussi fins et aussi rares sur les préparations. Il serait intéressant de reprendre systématiquement ces recherches de façon à établir s'il y a, chez le chien, une influence saisonnière (le printemps dans ce cas ne devrait pas être la meilleure saison). Nous n'avons eu jusqu'à présent ni le temps, ni le courage de le faire. Les cas positifs ont été rencontrés aux dates suivantes : 18 mars (1 cas), 30 avril (2 cas), 14 mai (1 cas).

L'autopsie complète n'a pu être pratiquée que sur le premier et le dernier de ces animaux. Par suite d'une erreur dans la transmssion des ordres donnés, les cadavres des deux autres chiens étaient déjà enlevés lorsque nos examens nous ont montré la présence des parasites dans leur organe.

Voici le résumé des observations sur ces animaux :

Chien I. — Caniche femelle, adulte, très maigre, écoulement fétide des deux oreilles. Rate légèrement hypertrophiée, pâle, ferme; foie congestionné. Les ganglions cervicaux sont gros (en rapport sans doute avec l'otite), aucune autre lésion viscérale.

La présence des corps de Leishman a été reconnue dans la moelle des os et dans la rate; aucun parasite n'a été trouvé par contre dans le sang périphérique, le liquide céphalo-rachidien et dans les organes suivants : foie, glandes salivaires, poumons, reins, ganglions mésentériques et cervicaux. Sur les frottis de rate et de moelle osseuse, les corps de Leishman sont assez rares et presque toujours isolés; ils ont leurs dimensions et leurs caractères ordinaires.

Une culture pratiquée avec la pulpe splénique sur le milieu NNN a donné lieu au développement des formes flagellées ordinaires. Cette culture a été repiquée. Des inoculations pratiquées avec la moelle osseuse et la rate de cet animal à un singe (bonnet chinois) et à un chien n'ont donné qu'un résultat négatif.

Chien II. — Adulte; rate très hypertrophiée, poids 250 grammes, de couleur noire, de consistance diminuée. Moelle osseuse rouge, aucun renseignement sur l'état des autres organes.

Les corps de Leishman sont rares dans la moelle osseuse, plus rares encore dans la rate. Ils sont généralement isolés mais on les rencontre groupés dans certaines parties des préparations, alors que leur absence est com-

plète sur le reste de la rate. Nous en avons observé d'intracellulaires; mais jamais au nombre de plus de deux dans une cellule.

L'envahissement des organes par de nombreuses bactéries ne nous a pas permis d'essayer des cultures.

Chien III. — Adulte; rate légèrement hypertrophiée, poids 25 grammes, couleur normale, consistance un peu diminuée, moelle osseuse peu abondante, rose avec une quantité notable de graisse. Aucun renseignement sur l'état des autres organes. Les corps de Leishman sont plus nombreux dans la rate et la moelle osseuse de cet animal que sur les frottis des mêmes organes chez les chiens I et II. Ils sont cependant en nombre encore restreint, généralement isolés, groupés parfois, rarement intracellulaires (2 au plus par cellule dans ce cas). A côté d'individus bien conservés, on trouve un certain nombre de parasites nettement altérés. Ces aspects ont été rencontrés également chez les autres chiens.

A noter que, sur les frottis prélevés à l'autopsie (chez l'enfant comme chez le chien) le centrosome est plus souvent arrondi et moins souvent en bâtonnet que sur les préparations pratiquées pendant la vie (sang de rate) ou de suite après la mort. Les dimensions des parasites sont également un peu moindres. Ces altérations cadavériques n'ont rien à voir avec les phénomènes de dégénérescence des parasites dont nous avons parlé.

Les ensemencements pratiqués avec la pulpe splénique et la moelle osseuse de ce troisième chien en milieu NNN n'ont donné lieu au développement d'aucun infusoire.

Deux jeunes chiens, âgés de trois semaines, inoculés dans le péritoine avec ce virus n'ont présenté aucun symptôme.

Chien IV. — Adulte; rate légèrement hypertrophiée; couleur et consistance normales. Moelle osseuse rouge. Pas de lésions des autres organes.

Corps de Leishman rarissimes dans la moelle osseuse et la rate. L'envahissement des organes par des bactéries très nombreuses n'a pas permis de tenter des cultures; pour la même raison, il n'a pas été pratiqué d'inoculations avec ce virus pauvre et altéré.

En dehors de ces 222 examens, pratiqués sur les cadavres de chiens asphyxiés à la fourrière de Tunis, nous avons également recherché la présence des corps de Leishman dans la rate et la moelle osseuse de :

5 chiens provenant de la banlieue de Tunis et adressés à l'Institut Pasteur pour le diagnostic de la rage;

21 chiens capturés à Gafsa;

5 chiens de la fourrière de Sfax.

Ces examens ont été négatifs.

Nombre total de chiens examinés : 253.

Il nous est impossible de donner ici une description du Kala Azar spontané du chien; ce que nous savons de la maladie expérimentale et les constatations faites à l'autopsie des animaux de la fourrière, tous très légèrement infectés, semblent indiquer que, plus encore que l'expérimentale, l'infection spontanée doit être bénigne et longue. Le diagnostic nous en paraît actuellement impossible, au moins dans des cas analogues à ceux que nous avons observés, la ponction hépatique ne pouvant donner dans ces conditions qu'un résultat nul ou très inconstant. Il y aurait lieu, si on voulait cependant l'employer, de tenter la culture, celle-ci paraissant plus précis que l'examen microscopique toujours long et pénible.

Cette difficulté actuellement insoluble de diagnostiquer le Kala Azar spontané du chien rend très difficile la *prophylaxie* de la maladie.

Nous ne savons pas à l'heure actuelle comment l'infection se transmet du chien au chien et du chien à l'enfant; il y a lieu *a priori* d'incriminer les *puces* ou les *moustiques*. Des expériences sont à entreprendre sur ce dernier point encore obscur de l'étiologie.

Nous avons dit plus haut que le *chat* s'était montré dans nos expériences réfractaire à l'inoculation du virus du Kala Azar. Nous avons recherché cependant sur un certain nombre de chats l'existence d'une leishmaniose spontanée analogue ou identique au Kala Azar du chien.

30 chats provenant de la fourrière de Tunis et 21 capturés à Gafsa soit au total 51 chats ont été examinés par nous. Chez aucun d'entre eux, nous n'avons rencontré de corps de Leishman.

Conclusions.

1. — Il existe en Tunisie, et très probablement dans l'Italie méridionale, une infection spéciale dont 11 observations ont été déjà recueillies (1). Cette maladie frappe uniquement les jeunes enfants. Elle débute en général dans le cours de la seconde année; on peut l'observer plus tôt (8 et même 5 mois); rarement elle frappe des enfants plus âgés (3, 4 et même 6 ans).

Toutes les races qui habitent la Tunisie, européennes ou indigènes, paraissent également sensibles à cette infection.

2. — Insidieuse à son début, où le diagnostic est des plus délicats, elle se caractérise à la période d'état par un ensemble

(1) Ce chiffre est aujourd'hui de douze (avril 1909).

de symptômes très caractéristique. Ces symptômes sont : une pâleur extrême, de l'amaigrissement, une hypertrophie considérable de la rate, une hypertrophie moindre du foie, des œdèmes fugaces et indolores, une température extrêmement irrégulière pouvant présenter dans une même journée plusieurs maxima, une accélération notable du pouls, des troubles digestifs, de la mononucléose. L'hémophilie et les hémorrhagies (gingivite, purpura) constituent un accident fréquent.

La durée de la maladie est très longue. Aucun des enfants observés n'a guéri, presque tous ont déjà succombé. La mort a été amenée soit par les progrès de l'anémie, soit par un accident aigu relevant de la maladie (accès de suffocation) soit par une infection intercurrente.

Nous croyons cependant la guérison possible, pour avoir observé trois enfants convalescents ou guéris, chez lesquels nous avons établi rétrospectivement le tableau clinique de la maladie.

3. — Le diagnostic, impossible au début, est rendu facile par l'apparition des symptômes caractéristiques de la période d'état. L'absence d'action de la quinine sur la fièvre permet d'éliminer l'hypothèse de paludisme. Pour porter d'une façon certaine le diagnostic, il est cependant nécessaire de pratiquer sur le malade la recherche du parasite.

4. — Le parasite est un protozoaire, du genre *Leishmania*, tout à fait voisin morphologiquement de celui du Kala Azar indou; nous lui avons donné le nom de *Leishmania infantum*. Il est facile à déceler et à reconnaître sur les produits recueillis par ponction de la rate ou du foie pendant la vie; c'est là le seul procédé dont l'application puisse permettre actuellement le diagnostic. La recherche dans le sang périphérique ne donne que des résultats inconstants.

5. — Chez l'enfant qui a succombé à la maladie, les seules lésions caractéristiques à l'autopsie sont l'hypertrophie énorme de la rate, qui conserve son aspect, sa couleur et sa consistance normales, celle du foie qui est moindre et la coloration rouge de la moelle osseuse.

Les parasites se rencontrent en quantité énorme sur les frottis de la rate, du foie et de la moelle osseuse, plus rarement dans ceux des autres organes. Ils sont tantôt libres, tantôt englobés

dans de grandes cellules mononucléaires, lesquelles peuvent en contenir un nombre considérable, ou dans leurs débris (gangues). Ces mononucléaires appartiennent en majorité à l'endothélium des vaisseaux.

6. — Cette infection est tout à fait voisine par ses symptômes, ses lésions, la morphologie et les localisations de son parasite, du *Kala Azar*, maladie des Indes anglaises, dont l'agent pathogène est *Leishmania Donovani*. Le seul signe différentiel des deux infections est *l'âge des malades*, le Kala Azar indou frappant les adultes aussi bien que les enfants. Pour indiquer à la fois cette analogie et cette différence nous avons donné à la maladie tunisienne le nom de *Kala Azar infantile*.

7. — Le Kala Azar infantile est à rapprocher des *anémies spléniques de l'enfance*. C'est avec elles qu'il a été jusqu'à présent confondu. Tout enfant qui présente de l'anémie, une grosse rate et une fièvre irrégulière ne cédant pas à la quinine, doit être considéré comme suspect de Kala Azar. C'est G. Pianese le premier qui a entrevu la nature de certaines anémies spléniques de l'enfance et qui les a rapprochées des leishmanioses. Ses constatations microscopiques, bien qu'incomplètes, semblent peu discutables.

8. — Nous avons pu cultiver le protozoaire du Kala Azar infantile sur un milieu approprié et obtenu des cultures indéfiniment repiquables.

Au milieu de Novy et Mac Neal qui nous avaient donné les premiers résultats, nous avons substitué avec avantage un milieu plus simple où n'entre que de l'eau, du sel marin, de la gélose et du sang de lapin.

Ce même milieu nous a permis d'obtenir également la culture du protozoaire du bouton d'Orient, *Leishmania tropica*.

Sur notre milieu, comme sur celui de Novy et Mac Neal, le parasite du Kala Azar se présente comme un infusoire uniflagellé du type *Herpetomonas* (ou *Leptomonas*); il en montre les organes essentiels : noyau, centrosome et flagelle.

9. — Le Kala Azar peut être reproduit expérimentalement par l'inoculation du virus au chien et au singe; les autres animaux semblent réfractaires.

Chez le chien, l'infection expérimentale est généralement discrète; elle dure un temps variable, dont le maximum n'a pu

être encore fixé, mais qui peut atteindre ou dépasser une année; elle semble être le plus souvent bénigne; nous n'avons cependant pas observé encore de cas de guérison et un de nos animaux d'expérience au moins a succombé aux progrès de la maladie. A l'autopsie du chien mort spontanément ou sacrifié en pleine infection, la rate est à peine augmentée de volume, le foie normal, la moelle osseuse rouge. La morphologie et la distribution du parasite sont les mêmes que chez l'enfant; on peut rencontrer quelquefois des *Leishmania* dans les cellules hépatiques ou les polynucléaires.

Chez le singe, la maladie expérimentale revêt une marche analogue, mais elle se rapproche davantage de l'infection humaine ; la fièvre, souvent absente ou à peine marquée chez le chien, ne manque pas et peut être élevée ; de plus, la rate est nettement hypertrophiée. Les constatations à l'autopsie ou à l'examen microscopique sont sensiblement les mêmes que chez le chien.

Pour suivre la marche de l'infection expérimentale chez les animaux inoculés, le procédé de choix est la ponction hépatique.

Le Kala Azar expérimental du chien ne paraît pas passer de la mère au fœtus.

10. — L'inoculation des cultures, inoffensive à faibles doses (C. Nicolle), permet l'infection du chien lorsqu'on emploie des doses massives et répétées (Novy).

11. — *Le Kala Azar infantile est une infection naturelle du chien transmissible à l'enfant.* — Sur 222 chiens de la fourrière de Tunis examinés par nous, 4 étaient infectés. Le Kala Azar spontané paraît être bénin et de longue durée, son diagnostic chez l'animal vivant offre actuellement les plus grandes difficultés en raison de l'absence des symptômes cliniques. La prophylaxie de la maladie paraît donc peu aisée à réaliser.

12. — Il y aura lieu de déterminer par l'intermédiaire de quels parasites le Kala Azar infantile passe du chien au chien et du chien à l'enfant.

Il y aura lieu également de rechercher la maladie, non seulement dans toute l'Afrique Mineure (Algérie, Maroc, Tunisie), mais encore sur l'étendue du bassin méditerranéen.

WELLCOME LIBRARY INSTITUTE

BIBLIOGRAPHIE (1)

L. Cathoire. — *Académie de Médecine*, 22 mars 1904 (note présentée par M. **Laveran**) et *Archives générales de Médecine*, 1905, p. 1426-1427.

G. Pianese. — Sull'anemia splenica infantile. 29° Reunione dei Patologi in Roma, mai 1905. Extrait de la *Gazetta internazionale di Medicina*, année VIII, Naples, 1905, imprimerie du Journal, via Pelegrini a Toledo 5.

C. Nicolle et E. Cassuto. — Sur un cas de Kala Azar (splénomégalie tropicale) observé en Tunisie. *Académie de Médecine*, 1er octobre 1907.

C. Nicolle et E. Cassuto. — Infection splénique infantile à corps de Leishman Donovan. *Presse Médicale*, 8 février 1908.

C. Nicolle. — Sur trois cas d'infection splénique infantile à corps de Leishman observés en Tunisie. *Arch. de l'Institut Pasteur de Tunis*, 1908 février, p. 3 à 26, une planche en couleurs.

C. Nicolle. — Culture des corps de Leishman isolés de la rate dans trois cas d'anémie splénique infantile. *Soc. de Pathologie exotique*, 12 février 1908, p. 121 à 126.

A. Porot. — Sur les anémies pseudo-leucémiques infantiles, à propos d'une observation, *Soc. des Sciences Médicales de Tunis*, 11 mai 1908p. 89-91.

C. Nicolle. — Nouvelles acquisitions sur le Kala Azar; cultures, inoculation au chien, étiologie. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 2 mars 1908, p. 498-499.

C. Nicolle. — Reproduction expérimentale du Kala Azar chez le chien. Origine canine probable de cette affection. *Soc. de Pathologie exotique*, 11 mars 1908, p. 188-190.

C. Nicolle et C. Comte. — Origine canine du Kala Azar. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 6 avril 1908.

C. Nicolle, E. Conseil, C. Comte, E. Cassuto. — Recherches sur le Kala Azar entreprises à l'Institut Pasteur de Tunis. *Arch. de l'Institut Pasteur de Tunis*, 1908, avril, p. 51-68.

C. Nicolle et C. Comte. — Origine canine du Kala Azar. *Soc. de pathologie exotique*, 13 mai, 1908, p. 299-301.

C. Nicolle, C. Comte, L. Manceaux. — Recherches sur le Kala Azar entreprises à l'Institut Pasteur de Tunis (nouvelle série d'expériences). *Arch. de l'Institut Pasteur de Tunis*, 1908, juillet, p. 97 à 116.

C. Nicolle, C. Comte, L. Manceaux, A. Cortesi. — Recherches sur le Kala Azar infantile entreprises à l'Institut Pasteur de Tunis (nouvelle série d'expériences). *Arch. de l'Institut Pasteur de Tunis*, 1908, octobre, p. 143-160.

F. G. Novy. — Successful canine infection with cultures of *Leishmania infantum* (C. Nicolle). *The Journal of the Medical Association*, octobre 1908, vol. 51, page 1423-1424.

C. Nicolle. — Quelques faits nouveaux relatifs au Kala Azar infantile. *Soc. de Pathol. exotique*, 9 décembre 1908, p. 602-605.

(Consulter également le fascicule de février 1909 des *Arch. de l'Institut Pasteur de Tunis* où se trouvent relatées, en détail, les observations encore inédites VIII, IX, X et XI ainsi que quelques données expérimentales nouvelles).

(1) Deux récentes publications émanant de deux sources différentes (Gabbi Pathon) semblent l'une rapprocher le Kala Azar italo africain de l'indou, l'autre l'en éloigne complètement. Le premier de ces auteurs aurait en effet observé un cas de la maladie chez un jeune homme de 18 ans, ce qui semblerait enlever à la maladie observée en Italie et Tunisie le seul caractère qui lui semble propre, sa limitation aux seuls enfants. Pathon, au contraire, n'aurait pu reproduire expérimentalement l'infection chez le chien par inoculation du virus indou, ce qui différencierait complètement au contraire la maladie des Indes du Kala Azar tunisien. Nous reviendrons, dans une publication ultérieure, sur ces faits qui ont besoin d'être confirmés l'un ou l'autre avant que nous songions à détruire ou affirmer définitivement la conception que nous avons présentée du *Kala Azar infantile*. Tunis, 25 avril 1909.

BIBLIOTECA